

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 614 113**

51 Int. Cl.:

**A61K 45/06** (2006.01)

**A61K 31/555** (2006.01)

**C07F 11/00** (2006.01)

**A61K 31/28** (2006.01)

**C07C 395/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.09.2005 PCT/IL2005/000990**

87 Fecha y número de publicación internacional: **23.03.2006 WO06030438**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.09.2005 E 05779639 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.11.2016 EP 1796660**

54 Título: **Uso de tricloro (dioxietilen-O,O) telurato de amonio (AS101) para la inhibición de la enzima convertidora de interleucina-1 beta**

30 Prioridad:

**17.09.2004 US 610660 P**

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

**29.05.2017**

73 Titular/es:

**BIOMAS LTD. (100.0%)  
The Hebrew University of Jerusalem, Edmond J.  
Safera Campus, Givat Ram High-Tech Village  
POB 39106, Jerusalem 91390, IL**

72 Inventor/es:

**ALBECK, MICHAEL y  
SREDNI, BENJAMIN**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o  
Bemerkungen) en el folleto original publicado por  
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 614 113 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

Uso de tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101) para la inhibición de la enzima convertidora de interleucina-1 beta

5

**Campo y antecedentes de la invención**

La presente invención se refiere a métodos terapéuticos y composiciones farmacéuticas para el tratamiento de afecciones asociadas a la inhibición de la enzima convertidora de interleucina (ECI).

10

Las citoquinas juegan un papel importante en la regulación del sistema inmunitario. Varios estudios indican que las variaciones en la expresión de citoquinas están asociadas a actividad patológica en trastornos de mediación inmunitaria o inflamatorios, incluyendo trastornos autoinmunitarios (Acta. Univ. Palacki. Olomuc., Fac. Med. 143: 19-29, 2000; Rheumatol. 39: 1078, 2000; J. Immunol. 167: 5338, 2001), trauma (cirugía) (Blood 87: 2095-2147, 1996), enfermedades isquémicas (infarto de miocardio) (Acta. Univ. Palacki. Olomuc., Fac. Med. 143: 19-29, 2000; Cell. Immunol. 184: 12, 1998), enfermedad de Alzheimer (Blood 87: 2095-2147, 1996), enfermedades del hígado (Immunol. Rev. 174: 192-209, 2000), artritis reumatoide (Arthritis Rheum. 44: 275, 2001; J. Rheumatol. 28: 1779, 2001), obesidad (Shock 14: 253, 2000), psoriasis (Arch. Dermatol. Res. 293: 334, 2001), y septicemia (Acta. Univ. Palacki. Olomuc., Fac. Med. 143: 19-29, 2000; Blood 87: 2095-2147, 1996; Shock 16: 441, 2000; J. Med. 31: 15, 2000).

20

El síndrome séptico es una respuesta inflamatoria aguda excesiva a varios ataques nocivos, en particular infección bacteriana. El papel de las citoquinas en la patogénesis de la septicemia es complejo, ya que con este síndrome se han asociado tanto respuestas inmunitarias deficientes como excesivas. Las citoquinas pro-inflamatorias, por un lado, son necesarias localmente para mecanismos efectores anti-bacterianas eficaces (J. Immunol. 145: 3762, 1990; Nature 381: 75, 1996; e Infect. Immun. 64: 5211, 1996), pero por otro lado, son potencialmente tóxicas cuando se secretan en la circulación (Nature 330: 662, 1987; J. Clin. Invest. 89: 1551, 1992). Por lo tanto, la capacidad de inhibir la producción de mediadores inflamatorios altamente activos puede tener un efecto beneficioso en el control del desarrollo de la septicemia. Los pacientes con choque séptico que murieron tenían niveles más altos de IL-18 que los pacientes que sobrevivieron (Shock 14: 253, 2000).

25

30

La IL-1 $\beta$  es crucial para la inducción de fiebre y de la respuesta de fase aguda durante el daño tisular local; en la inflamación sistémica contribuye a la reacción inflamatoria (Acta. Univ. Palacki. Olomuc., Fac. Med. 143: 19-29, 2000). Esta citoquina es importante en la respuesta al daño tisular y la infección, pero no es necesaria para el desarrollo normal y la homeostasis. Los niveles séricos de IL-1 $\beta$  e IL-1Ra se encuentran significativamente elevados en la septicemia grave (Acta Univ. Palacki, Olomuc., Fac, Med. 143: 19-29, 2000).

35

La familia de citoquinas IL-1, que incluyen la IL-18 y la IL-1 $\beta$ , son hormonas clave del sistema inmunitario. Tanto la IL-18 como la IL-1 $\beta$  se expresan y son producidas por varios tipos de células de linajes hematopoyético y no hematopoyético, tales como células dendríticas, monocitos/macrófagos, células de microglía, queratinocitos, células epiteliales intestinales, etc. Estudios recientes enfatizan el papel fisiopatológico de la IL-18 y IL-1 $\beta$  en varias enfermedades neurodegenerativas, autoinmunitarias e inflamatorias, tales como la inflamación, la hematopoyesis y la cicatrización de heridas (Immunol. Today 7: 45-56, 1986).

40

La interleucina-18 es una señal temprana en el desarrollo de respuestas los linfocitos auxiliares T de tipo 1 (Th1). Actúa junto con la IL-12 para inducir diversas citoquinas, incluyendo el IFN- $\gamma$ , para activar las células Th1. El IFN- $\gamma$  a su vez es responsable de inducir la producción de la proteína del receptor soluble, la proteína de unión a IL-18 (IL-18BP), un regulador por disminución natural de la actividad IL-18, que se une específicamente a IL-18 y neutraliza su actividad biológica *in vitro* e *in vivo* (Immunity 10: 127, 1999).

45

50

La IL-18 e IL-1 $\gamma$  se expresan y se producen en una forma inactiva, que requiere la activación por enzimas proteasa. Las enzimas proteasas se dividen en cuatro familias, (serin-, metalo-, aspártico- y cisteína-proteasas) en función de sus restos catalíticos y su mecanismo de acción. Aunque las proteasas de serina utilizan un hidroxilo nucleófilo del resto de serina y las aspártico y metaloproteasas poseen carboxilatos como funcionalidades activas, las cisteína proteasas tienen un tiol nucleófilo en el sitio activo.

55

Las enzimas caspasas (cisteína proteasas aspárticas específicas) son una familia de endopeptidasas de cisteína intracelulares, que escinden sus sustratos después de restos de aspartato (Ann. Rev. Immunol. 17: 781-828, 1999). Las caspasas se dividen en dos clases basadas en las longitudes de sus prodominios N-terminales. Las caspasas-1, -2, -4, -5, -8, y -10 tienen prodominios largos; y las caspasas-3, -6, -7 y -9 tienen prodominios cortos.

60

La caspasa 1, que también se conoce y a la que se hace referencia en la presente memoria, de forma intercambiable, como enzima convertidora de interleucina- $\beta$  (ECI), se expresa como una proenzima de 45 kDa en muchos tejidos (J. Clin. Immunol. 19: 1, 1999). Tras la estimulación, se somete a la activación por escisión proteolítica. La ECI activa es un tetrámero de dos subunidades p10 y p20 no idénticas en proporción 2:2, que es el único responsable de la escisión de la pro-interleucina-1 $\beta$  (31 o 33 kDa), en interleucina-1 $\beta$  madura (IL-1 $\beta$ ) (17,5

65

kDa), que consta de 153 restos C-terminales de la forma inactiva; y la pro-IL-18 (24 kDa), que se escinde en el Asp35, en la forma biológicamente activa de 18 kDa (J. Immunother. 25: S4-S11, 2002; Nature 386: 619, 1997; Science 275: 206, 1997). La citoquina activa se libera por un mecanismo no convencional, ya que a diferencia del caso con la mayoría de las proteínas secretoras, el precursor carece de una secuencia señal y no está asociado a compartimentos unidos a la membrana (J. Exp. Med. 167: 389-407, 1988).

Por lo tanto, la ECI desempeña un papel importante en los procesos fisiológicos mediados por IL-1 $\beta$  y IL-18.

Se han descrito varios compuestos de telurio en la técnica por tener propiedades inmunomoduladoras. Una familia particularmente eficaz de compuestos que contienen telurio se enseña, por ejemplo, en las patentes de Estados Unidos n.º 4.752.614; 4.761.490; 4.764.461 y 4.929.739, con lo que se enseña otra familia eficaz, por ejemplo, en una Solicitud de patente provisional de Estados Unidos recientemente presentada n.º 60/610.660, todas ellas que se incorporan por referencia como si se expusiera en el presente documento. Las propiedades inmunomoduladoras de esta familia de compuestos que contienen telurio se describe, por ejemplo, en las patentes de Estados Unidos n.º 4.962.207, 5.093.135, 5.102.908 y 5.213.899, todas ellas que se incorporan por referencia como si se expusiera en el presente documento.

Uno de los compuestos más prometedores que se describen en estas patentes es el tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio, que también se denomina en este documento y en la técnica como AS101. El AS101, como ejemplo representativo de la familia de compuestos que contienen telurio que se ha descrito anteriormente, presenta actividad antiviral (Nat. Immun. Cell Growth Regul. 7(3):163-8, 1988; AIDS Res Hum Retroviruses. 8(5):613-23, 1992), y actividad tumoricida (Nature 330(6144):173-6, 1987; J Clin. Oncol. 13(9):2342-53, 1995; J Immunol 161(7):3536-42, 1998).

Se ha sugerido que AS101, así como otros inmunomoduladores que contienen telurio, estimulan el parte innata y adquirida de la respuesta inmunitaria. Por ejemplo, se ha demostrado que AS101 es un potente activador del interferón (IFN) en ratones (J. Natl. Cancer Inst. 88 (18): 1276-1284, 1996) y seres humanos (Nat. Immun. Cell Growth Regul. 9(3):182-90, 1990; Immunology 70(4):473-7, 1990; J. Natl. Cancer Inst. 88(18):1276-84, 1996).

También se ha demostrado que el AS 101 induce la secreción de un espectro de citoquinas, tales como IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$ , y que los macrófagos son una diana principal para AS101 (Exp. Hematol. 23(13):1358-66, 1995). También se encontró que AS101 inhibe la IL-10 a nivel del m-ARN, que puede causar un aumento de la IL-12 e IFN- $\gamma$  (Cell Immunol. 176(2):180-5, 1997; J. Natl. Cancer Inst 88(18):1276-84, 1996).

Otras publicaciones que describen las propiedades de inmunomodulación de AS101 incluyen, por ejemplo, "The immunomodulator AS101 restores T(H1) type of response suppressed by Babesia rodhaini in BALB/c mice". Cell Immunol Feb 1998; "Predominance of TH1 response in tumor-bearing mice and cancer patients treated with AS101". J Natl Cancer Inst 1996 Sep; "AS-101: a modulator of in vitro T-cell proliferation". Anticancer Drugs 1993 Jun; "The immunomodulator AS101 administered orally as a chemoprotective and radioprotective agent". En J Immunopharmacol Mayo 1992; "Inhibition of the reverse transcriptase activity and replication of human immunodeficiency virus type 1 by AS 101 in vitro". AIDS Res Hum Retroviruses Mayo 1992; "Immunomodulatory effects of AS101 on interleukin-2 production and T-lymphocyte function of lymphocytes treated with psoralens and ultraviolet A". Photodermatol Photoimmunol Photomed Feb 1992; "Use and mechanism of action of AS101 in protecting bone marrow colony forming units-granulocyte-macrophage following purging with ASTA-Z 7557". Cancer Res 15 Oct 1991; "The effect of the immunomodulator agent AS101 on interleukin 2 production in systemic lupus erythematosus (SLE) induced in mice by a pathogenic anti-DNA antibody". Clin Exp Immunol Mar 1990; "Toxicity study in rats of a tellurium based immunomodulating drug, AS-101: a potential drug for AIDS and cancer patients". Arch Toxicol 1989; "The biological activity and immunotherapeutic properties of AS-101, a synthetic organotellurium compound". Nat Immun Cell Growth Regul 1988; y "A new immunomodulating compound (AS-101) with potential therapeutic application", Nature Nov 1987.

También se ha demostrado que AS-101 tiene efectos protectores contra los efectos letales y subletales de la irradiación y la quimioterapia (Blood 85: 1555, 1995; J. Nat. Cancer Inst. 88: 1276, 1996; In. J. Cancer 86: 281, 2000; J. Immunol. 156: 1101, 1996; J. Immunol. 145: 1507, 1990; Cancer Res. 51: 1499, 1991).

Por otra parte, AS101 puede inhibir la actividad de STAT3 (transductor de señales y activador de la transcripción 3) inhibiendo IL-10 (Cancer Res. 64: 1843, 2004). Cuando se produce la unión de IL-10 al receptor de IL-10, se activan las tirosina quinasas Janus quinasa activada (Jak) asociada al receptor y estimulan la señalización aguas abajo. Uno de los principales factores de transcripción activado es STAT3. STAT3 fosforilado y activado se transloca al núcleo y regula la expresión de genes específicos (J. Immunol 155: 1079, 1995). Uno de los genes diana de STAT3 es el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) (Clin Cancer Res 8: 945, 2002; Oncogene 21: 2000, 2002; Oncogene 22: 319, 2003). Hace poco se encontró que este factor era responsable de la inducción de IL-18 (Cancer Res. 64: 304, 2004). Por otra parte, recientemente se encontró que IL-1 $\beta$  solo (Cancer Sci. 94: 244, 2003) y, junto con la oncostatina-M (Oncogene 22: 8117, 2003) induce una expresión de VEGF hasta siete veces más alta debido a su influencia mutua sobre STAT3. La capacidad de AS101 para regular a la baja STAT3, puede contribuir al efecto inhibidor global.

Además, se encontró que aunque AS101 no muestra inhibición de serina, metalo, y aspártico proteasas, inhibe las proteasas de cisteína, mediante una oxidación catalítica de tiol (Inorg Chem 37: 1704-1712, 1998).

Además de su efecto inmunomodulador, AS101 también se caracteriza por una baja toxicidad. Las pruebas de toxicidad han demostrado que los valores de DL50 en ratas después de la administración intravenosa e intramuscular de AS101 son 500-1000 veces más altas que la dosis inmunológicamente eficaz.

Por lo tanto, aunque la técnica anterior enseña varios roles primarios y secundarios de los compuestos que contienen telurio tales como AS101 como inmunomoduladores, no consigue enseñar la participación de los compuestos que contienen telurio en la inhibición de la caspasa-1/enzima convertidora de IL-1 $\beta$  (ECI).

En vista de los hallazgos de que una gran variedad de afecciones médicas se asocian a la ECI, hay una necesidad ampliamente reconocida, y sería altamente ventajoso tener, nuevos agentes que sean capaces de inhibir la ECI y por lo tanto se puedan utilizar de forma beneficiosa en el tratamiento de tales afecciones.

### Sumario de la invención

La presente invención enseña métodos y composiciones farmacéuticas para el tratamiento de afecciones asociadas a la inhibición de la enzima convertidora de interleucina (ECI).

De acuerdo con un aspecto de la presente invención, se proporciona un método de tratamiento de una afección en la que es beneficiosa la inhibición de la enzima convertidora de interleucina-1 $\beta$ , que comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101).

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona un uso de tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101) en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una afección en la que la inhibición de la enzima convertidora de interleucina-1 $\beta$  es beneficiosa.

De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica identificada para su uso en el tratamiento de una afección en la que la inhibición de la enzima convertidora de interleucina-1 $\beta$  es beneficiosa, que comprende tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101) y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

De acuerdo con otras características adicionales en realizaciones preferidas de la invención que se describen a continuación, la composición farmacéutica se envasa en un material de envasado y se identifica en la impresión, en o sobre dicho material de envasado, para su uso en el tratamiento de afecciones asociadas a la inhibición de la enzima convertidora de interleucina.

La afección tratable por los métodos o composiciones de la presente invención comprenden la esclerodermia, dermatitis atópica, cicatrización, melanoma metastásico, sarcoma de Kaposi, quemaduras y envejecimiento.

De acuerdo con todavía otras características en las realizaciones preferidas descritas de los métodos de la presente invención, la administración se puede efectuar por una vía seleccionada del grupo que consiste en inhalación, vía oral, bucal, rectal, transmucosa, transdérmica, intradérmica, transnasal, intestinal y/o parenterales; vía intramuscular, subcutánea y/o inyección intramedular; vía intratecal, intraventricular directa, intravenosa, intraperitoneal, intranasal, y/o inyección intraocular; y/o inyección directa en una región de tejido.

Preferentemente, para la administración sistémica, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I varía de aproximadamente 0,01 mg/m<sup>2</sup>/día a aproximadamente 20 mg/m<sup>2</sup>/día y, más preferentemente, de aproximadamente 0,01 mg/m<sup>2</sup>/día a aproximadamente 10 mg/m<sup>2</sup>/día.

De acuerdo con todavía otras características en las realizaciones preferidas descritas de los métodos y usos de la presente invención, el tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101) forma parte de una composición farmacéutica, que comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, la concentración de tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101) de fórmula I en el vehículo varía de aproximadamente el 0,01 por ciento en peso a aproximadamente el 50 por ciento en peso, más preferentemente de aproximadamente el 0,1 por ciento en peso a aproximadamente el 25 por ciento de peso, del peso total de la composición. Opcionalmente, la composición farmacéutica puede comprender además al menos un principio activo adicional, incluyendo, pero no limitado a, un agente antineoplásico, un inmunomodulador, un interferón y un fármaco anti-inflamatorio no esteroideo (por ejemplo, oxicams, piroxicam, isoxicam, tenoxicam, sudoxicam, CP-14,304, salicilatos, aspirina, disalcida, benorilato, trilisato, safaprina, solprina, diflunisal, fendosal, derivados del ácido acético, diclofenaco, fenclofenaco, indometacina, sulindac, tolmetina, isoxepaco, furofenaco, tiopinaco, zidometacina, acematacina, fentiazaco, zomepirac, clindanac, oxepinac, felbinaco, ketorolac, fenamatos, ácidos mefenámico, meclofenámico, flufenámico, niflúmico, tolfenámico, derivados de ácido propiónico, ibuprofeno, naproxeno, benoxaprofeno, flurbiprofeno, ketoprofeno, fenoprofeno, fenbufeno, indoprofeno, piroprofeno, carprofeno,

oxaprozina, pranoprofeno, miroprofeno, tioxaprofeno, suprofeno, alminoprofeno, tiaprofeno, pirazoles, fenilbutazona.

De acuerdo con todavía otras características en las realizaciones preferidas descritas de los métodos de la presente invención, la administración se puede efectuar por una vía seleccionada del grupo que consiste en inhalación, vía oral, bucal, rectal, transmucosa, transdérmica, intradérmica, transnasal, intestinal y/o parenteral; vía intramuscular, subcutánea y/o inyección intramedular; vía intratecal, intraventricular directa, intravenosa, intraperitoneal, intranasal, y/o inyección intraocular; y/o inyección directa en una región de tejido.

Preferentemente, para la administración sistémica, la cantidad terapéuticamente eficaz de triclora (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS14101) varía de aproximadamente 0,01 mg/m<sup>2</sup>/día a aproximadamente 20 mg/m<sup>2</sup>/día y, más preferentemente, de aproximadamente 0,01 mg/m<sup>2</sup>/día a aproximadamente 10 mg/m<sup>2</sup>/día.

De acuerdo con todavía otras características en las realizaciones preferidas descritas de los métodos y usos de la presente invención, el compuesto que contiene telurio forma parte de una composición farmacéutica, dicha composición farmacéutica que comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable, preferentemente, una concentración de dicho compuesto que contiene telurio, el triclora (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101), en el vehículo varía de aproximadamente el 0,01 por ciento en peso a aproximadamente el 50 por ciento en peso, más preferentemente de aproximadamente el 0,1 por ciento en peso a aproximadamente el 25 por ciento en peso, del peso total de la composición. Opcionalmente, la composición farmacéutica puede comprender además al menos un principio activo adicional, incluyendo, pero no limitado a, un agente antineoplásico, un inmunomodulador, un interferón y un fármaco anti-inflamatorio no esteroideo (por ejemplo, oxicams, piroxicam, isoxicam, tenoxicam, sudoxicam, CP-14,304, salicilatos, aspirina, disalcida, benorilato, trilisato, safaprina, solprina, diflunisal, fendosal, derivados del ácido acético, diclofenaco, fenclofenaco, indometacina, sulindac, tolmetina, isoxepaco, furofenaco, tiopinaco, zidometacina, acematacina, fentiazaco, zomepirac, clindanac, oxepinac, felbinaco, ketorolac, fenamatos, ácidos mefenámico, meclofenámico, flufenámico, niflúmico, tolfenámico, derivados de ácido propiónico, ibuprofeno, naproxeno, benoxaptofeno, flurbiprofeno, ketoprofeno, fenoprofeno, fenbufeno, indoprofeno, pirprofeno, carprofeno, oxaprozina, pranoprofeno, miroprofeno, tioxaprofeno, suprofeno, alminoprofeno, tiaprofeno, pirazoles, fenilbutazona, oxifenbutazona, feprazona, azapropazona, trimetazona y derivados, ésteres, sales y mezclas de los mismos).

De acuerdo con todavía otras características en las realizaciones preferidas descritas de los métodos o composiciones de la presente invención, la composición opcionalmente puede comprender además al menos un ingrediente seleccionado del grupo que consiste en un humectante, un agente desodorante, un antitranspirante, un agente de protección solar, un agente bronceador sin sol, un agente de ajuste del pH, un agente quelante, un conservante, un emulsionante, un agente oclusivo, un emoliente, un espesante, un agente solubilizante, un potenciador de la penetración, un anti-irritante, un colorante, un agente propulsor y un agente tensioactivo.

La composición farmacéutica se puede envasar en un material de envasado y se identifica en la impresión, en o sobre el material de embalaje, para su uso en el tratamiento de una afección en la que la inhibición de la enzima convertidora de interleucina-β es beneficiosa.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado que se entiende comúnmente por un experto en la técnica a la que pertenece esta invención. Aunque en la práctica o ensayo de la presente invención se pueden usar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento, a continuación se describen métodos y materiales adecuados. En caso de conflicto, prevalecerá la memoria de patente, incluyendo sus definiciones. Además, los materiales, métodos y ejemplos son solo ilustrativos y no pretenden ser limitantes.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "método" se refiere a las maneras, medios, técnicas y procedimientos para llevar a cabo una tarea determinada, incluidos, pero no limitados a, las maneras, medios, técnicas y procedimientos bien conocidos, o desarrollados fácilmente a partir de formas, medios, técnicas y procedimientos conocidos por los profesionales de las industrias química, farmacológica, biológica, bioquímicas y médicas.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "tratar" incluye abrogar, sustancialmente inhibir, retardar o invertir la progresión de una afección, sustancialmente mejorar los síntomas clínicos o estéticos de una afección o prevenir sustancialmente la aparición de síntomas clínicos o estéticos de una afección.

El término "que comprende" significa que se pueden añadir otras etapas e ingredientes que no afecten al resultado final. Este término abarca los términos "que consiste en" y "que consiste esencialmente en".

La frase "que consiste esencialmente en" significa que la composición o el método pueden incluir ingredientes y/o etapas adicionales, pero solo si los ingredientes y/o etapas adicionales no alteran materialmente las características básicas y nuevas de la composición o método reivindicado.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o listado en la Farmacopea de Estados Unidos u otra farmacopea

generalmente reconocida para su uso en animales, y más en particular en seres humanos. En este documento, las frases "vehículo fisiológicamente adecuado" y "vehículo farmacéuticamente aceptable" se utilizan indistintamente y se refieren a un vehículo o un diluyente autorizado que no causa irritación significativa a un organismo y no anula la actividad biológica y las propiedades del conjugado administrado.

5 Tal como se usa en el presente documento, la forma singular "un", "una" y "el/la" incluyen referencias plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. Por ejemplo, el término "un compuesto" o "al menos un compuesto" puede incluir una pluralidad de compuestos, incluyendo mezclas de los mismos.

10 A lo largo de esta descripción, los diversos aspectos de esta invención se pueden presentar en formato de intervalo. Debe entenderse que la descripción en formato de intervalo es meramente por conveniencia y brevedad, y no debe interpretarse como una limitación inflexible sobre el alcance de la invención. En consecuencia, la descripción de un intervalo debe considerarse que específicamente desvela todos los posibles subintervalos, así como valores numéricos individuales dentro de ese intervalo. Por ejemplo, la descripción de un intervalo tal como de 1 a 6 se debe considerar que desvela específicamente subintervalos tales como de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 4, de 2 a 6, de 3 a 6, etc., así como números individuales dentro de ese intervalo, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 y 6. Esto se aplica independientemente de la amplitud del intervalo.

20 Cada vez que en el presente documento se indica un intervalo numérico, se entiende que incluye cualquier número citado (fraccionada o integral) dentro del intervalo indicado. Las frases "que van/oscilan entre" un primer número indicado y un segundo número indicado y "que van/oscilan entre" un primer número indicado "y" un segundo número indicado se usa en el presente documento de manera intercambiable y se entiende que incluyen el primer y el segundo número indicados y todos los números fraccionarios e integrales entre los mismos.

## 25 Breve descripción de los dibujos

La invención se describe en el presente documento, solo a modo de ejemplo, con referencia a los dibujos adjuntos. Ahora con referencia específica en detalle a los dibujos, se insiste en que las particularidades mostradas sirven solamente a modo de ejemplo y para fines de discusión ilustrativa de las realizaciones preferidas de la presente invención, y se presentan con el fin de proporcionar lo que se cree es la descripción más útil y fácilmente comprensible de los principios y aspectos conceptuales de la invención. En este sentido, no se hace ningún intento de mostrar detalles estructurales de la invención con más detalle del necesario para una comprensión fundamental de la invención, la descripción tomada con los dibujos que hace evidente para los expertos en la técnica cómo se pueden realizar en la práctica las varias formas de la invención.

35 En los dibujos:

La FIG. 1 es un gráfico de barras que demuestra el efecto de AS101 sobre la actividad de la ECI;

40 Las Figs. 2a-b son gráficos de barras que demuestran el efecto inhibitorio de AS101 sobre la secreción de IL-18 (Figura 2a) e IL-1 $\beta$  (Figura 2b);

Las Figs. 3a-c presentan el análisis Western Blot de proteínas celulares totales procedentes de queratinocitos humanos HaCaT utilizando anticuerpos dirigidos contra IL-18 (Figuras 3a y 3b) y el efecto inhibitorio de AS101 (Figura 3c);

45 Las Figs. 4a-b presentan el análisis de Western Blot de la inducción de IL-18 por PMA (Figura 4a) y LPS (Figura 4b) a nivel de ARNm;

La FIG. 5 es un gráfico de barras que demuestra el papel del óxido nítrico en la capacidad de AS101 para inhibir la actividad de la caspasa-1;

La FIG. 6 es un gráfico de barras que demuestra el papel del IFN- $\gamma$  en la capacidad de AS101 para inhibir la actividad de la caspasa-1;

50 Las Figs. 7a-b son gráficos de barras que demuestran el efecto del AS101 en los niveles séricos de IL-18 (Figura 7a) e IL-1 $\beta$  (Figura 7b) en ratones sépticos inducidos por LPS; y

La FIG. 8 es un gráfico que demuestra el efecto de AS101 en la supervivencia de ratones sépticos inducidos por LPS.

## 55 Descripción de las realizaciones preferidas

La presente invención se refiere a métodos y composiciones que comprenden tricloro (dioxietileno-O,O') telurato de amonio (AS101) para la inhibición de la enzima convertidora de interleucina- $\beta$  (ECI).

60 Los principios y el funcionamiento de las composiciones y métodos de acuerdo con la presente invención se pueden entender mejor con referencia a las descripciones que se adjuntan.

Antes de explicar en detalle al menos una realización de la invención, ha de entenderse que la invención no está limitada en su aplicación a los detalles expuestos en la siguiente descripción o ejemplificados por los Ejemplos. La invención es capaz de otras realizaciones o de ponerse en práctica o de llevarse a cabo de varias maneras. Además, ha de entenderse que la fraseología y terminología empleada en el presente documento tiene el fin de ser

descriptiva y no debe considerarse como limitante.

La frase "propiedades inmunomoduladoras" incluye cualquier efecto del compuesto sobre la respuesta inmunitaria de un sujeto. Los ejemplos de propiedades inmunomoduladoras se pueden manifestar, por ejemplo, por un efecto sobre la secreción de citoquinas, la producción de interleucinas, la función de linfocitos, y similares.

Mientras se concebía la presente invención, se postuló que dado que AS101 puede interactuar con la cisteína, que afecta a la oxidación de tiol, AS101, así como otros compuestos que contienen telurio relacionados pueden tener un efecto sobre la ECI, y como consecuencia, sobre dos sustratos conocidos de la ECI, la IL-18 e IL-1 $\beta$ .

Como se muestra en la sección de Ejemplos a continuación, mientras la reducía la presente invención a la práctica, usando el ensayo enzimático específico de sustrato, se demostró que el tratamiento de la caspasa-1 con AS101 inhibe la actividad enzimática de una manera dependiente de la concentración (Figura 1). Se demostró, además, que en PBMC humanas recién aisladas estimuladas con la cepa Cowan de *Staphylococcus aureus*, AS101 inhibe la secreción de IL-18, así como de IL-1 $\beta$  (Figura 2). Por otra parte, se demostró que AS101 inhibe los niveles intracelulares de IL-18 madura en queratinocitos humanos estimulados (Figura 3).

A fin de asegurar que el efecto inhibitor se debe principalmente a la inhibición directa de la caspasa-1 a nivel postraduccional, se examinaron los niveles de ARNm de IL-18. Se encontró que AS101 no ejerce ningún efecto inhibitor en el nivel de ARNm de IL-18 (Figura 4), lo que indica un mecanismo de acción postranscripcional.

Se demostró además que el efecto inhibitor de AS101 no implica al NO ni al IFN- $\gamma$ , dos posibles reguladores a la baja de la producción de IL-18. La inducción de la respuesta del óxido nítrico inhibiendo la IL-10 también puede modular la respuesta inflamatoria mediante un nuevo mecanismo de acción.

Por un lado, la inflamación moderada puede proporcionar protección contra patógenos invasores, y se ha demostrado que AS101 puede inducir IFN- $\gamma$ , IL-1 $\alpha$  y otras citoquinas proinflamatorias. Por otro lado, AS101 es capaz de atenuar y modular esta respuesta inhibiendo los productos inflamatorios de la ECI, IL-18 e IL-1 $\beta$ .

Se sabe que la familia de proteasas de cisteína opera en un mecanismo de cascada, con la participación en primer lugar de iniciadores, y a continuación de efectores. Este mecanismo de acción es bien conocido durante las respuestas de apoptosis, pero recientemente se ha encontrado que la ECI también requiere "iniciadores", en particular, la caspasa-11 y -4, con el fin de volverse activa (Ann. Rev. Immunol 17: 781 -828, 1999). La inhibición de la maduración de IL-18 y IL-1 $\beta$  *in vitro* e *in vivo* por AS101 se puede deber no solo a su efecto sobre la caspasa-1, sino también en parte debido a su efecto sobre otras caspasas que se requieren para el reclutamiento de la ECI.

Los datos presentados en este documento sugieren que AS101, así como los compuestos que contienen telurio relacionados, pueden contribuir un papel importante en el equilibrio de la respuesta inmunitaria en muchas afecciones fisiopatológicas, inhibiendo la enzima caspasa-1 (ECI).

El tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101) es particularmente útil en aplicaciones terapéuticas relacionadas con la esclerodermia, dermatitis atópica, cicatrización, melanoma metastásico, sarcoma de Kaposi, quemaduras y envejecimiento.

El compuesto tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101) se puede administrar o utilizar de otro modo en los diversos aspectos de la presente invención, ya sea como tal o como una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La frase "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una especie cargada del compuesto original y su contraión, que normalmente se utiliza para modificar las características de solubilidad del compuesto original y/o para reducir cualquier irritación significativa a un organismo por el compuesto original, al tiempo que no se abroga la actividad biológica y las propiedades del compuesto administrado.

El compuesto tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101) se puede administrar a un sujeto que padece una afección relacionada con la ECI, así como para el tratamiento de la afección inhibiendo la ECI.

Una lista representativa de las afecciones médicas relacionadas con la ECI que se pueden tratar por los compuestos que contienen telurio descritos en este documento, mediante un mecanismo de inhibición de la ECI, se ha presentado anteriormente.

Las vías adecuadas de administración pueden incluir, por ejemplo, inhalación, vía oral, bucal, rectal, transmucosa, transdérmica, intradérmica, transnasal, intestinal y/o parenteral; vía intramuscular, subcutánea y/o inyección intramedular; vía intratecal, intraventricular directa, intravenosa, intraperitoneal, intranasal, y/o inyección intraocular; y/o la vía de inyección directa en una región de tejido de un sujeto de la presente invención.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad farmacéuticamente eficaz" se refiere a la dosis de un

principio activo o de una composición que comprende el principio activo que va a proporcionar el efecto terapéutico para el que está indicado el principio activo. Más específicamente, una cantidad terapéuticamente eficaz significa una cantidad de principios activos eficaces para prevenir, aliviar o mejorar los síntomas de la enfermedad o prolongar la supervivencia del sujeto que está siendo tratado.

5 La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz está dentro de las capacidades de los expertos en la técnica.

10 Para cualquier preparación utilizada en los métodos de la invención, la cantidad o dosis terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente a partir de ensayos *in vitro*. Por ejemplo, una dosis se puede formular en modelos animales y dicha información se puede utilizar para determinar con mayor precisión las dosis útiles en seres humanos.

15 La toxicidad y la eficacia terapéutica de los principios activos descritos en este documento se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos convencionales *in vitro*, en cultivos celulares o animales experimentales. Los datos obtenidos de estos ensayos *in vitro* y de cultivos celulares y estudios animales se pueden usar para formular un intervalo de dosificación para su uso en humanos. La dosificación puede variar dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada. La formulación exacta, la vía de administración y la dosificación se pueden seleccionar por el médico individual en vista de la afección del paciente. [Véase por ejemplo, Fingl, et al., (1975) "The Pharmacological Basis of Therapeutics", Cap. 1 p.1].

20 Dependiendo de la gravedad y la capacidad de respuesta de la afección a tratar, la dosificación puede ser una sola o una pluralidad de administraciones, con el transcurso del tratamiento que dura de varios días a varias semanas o hasta que se efectúe la curación o se logre una disminución del estado de enfermedad.

25 Cuando se administra sistémicamente, la cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos que contienen telurio descritos en este documento puede variar, por ejemplo, de aproximadamente 0,01 mg/m<sup>2</sup>/día a aproximadamente 20 mg/m<sup>2</sup>/día y por lo tanto puede ser, por ejemplo, de 0,01 mg/m<sup>2</sup>/día, 0,02 mg/m<sup>2</sup>/día, 0,03 mg/m<sup>2</sup>/día, 0,04 mg/m<sup>2</sup>/día, 0,05 mg/m<sup>2</sup>/día, 0,1 mg/m<sup>2</sup>/día, 0,5 mg/m<sup>2</sup>/día, 1 mg/m<sup>2</sup>/día, 2 mg/m<sup>2</sup>/día, 3 mg/m<sup>2</sup>/día, 4 mg/m<sup>2</sup>/día, 5 mg/m<sup>2</sup>/día, y hasta 10 mg/m<sup>2</sup>/día. Preferentemente, para la administración sistémica, la cantidad terapéuticamente eficaz de tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101) varía de aproximadamente 0,01 mg/m<sup>2</sup>/día a aproximadamente 10 mg/m<sup>2</sup>/día. También se pueden emplear cantidades terapéuticamente eficaces superiores, tales como, por ejemplo, hasta 20 mg/m<sup>2</sup>/día.

35 Preferentemente, cuando se administra por vía intraperitoneal, la cantidad terapéuticamente eficaz es de 0,01 mg/m<sup>2</sup>/día y superior y por lo tanto puede ser, por ejemplo, de 0,01 mg/m<sup>2</sup>/día, 0,05 mg/m<sup>2</sup>/día, 0,1 mg/m<sup>2</sup>/día, 0,2 mg/m<sup>2</sup>/día, 0,5 mg/m<sup>2</sup>/día, 0,6 mg/m<sup>2</sup>/día, 0,7 mg/m<sup>2</sup>/día, 0,8 mg/m<sup>2</sup>/día, 0,9 mg/m<sup>2</sup>/día, 1 mg/m<sup>2</sup>/día, 2 mg/m<sup>2</sup>/día, 3 mg/m<sup>2</sup>/día, 4 mg/m<sup>2</sup>/día, 5 mg/m<sup>2</sup>/día, y hasta 20,0 mg/m<sup>2</sup>/día.

40 Cuando se administra por vía oral en humanos, una dosis diaria normalmente oscila entre 0,1 mg y 200 mg, más preferentemente entre 1 mg y 100 mg, dependiendo de la edad y el peso del sujeto. La dosis diaria total puede administrarse como una dosis única, o se puede dividir en una serie de dosis separadas.

45 Tal como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" se refiere a  $\pm 10\%$ .

50 El método de acuerdo con este aspecto de la presente invención puede comprender adicionalmente, además de la administración del tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101), la co-administración de un principio activo adicional. La co-administración se puede efectuar antes de, junto con o después de la administración del compuesto que contiene telurio. El principio activo adicional se utiliza para proporcionar un efecto beneficioso aditivo en términos de la dolencia a tratar, las afecciones asociadas a la dolencia que se está tratando o de otros parámetros tales como los efectos psicológicos y efectos profilácticos.

55 Por lo tanto, principios activos adicionales a modo de ejemplo de acuerdo con esta realización de la presente invención incluyen, sin limitación, uno o más, o cualquier combinación de un agente antibiótico, un agente antimicrobiano, un agente antibacteriano, un agente antifúngico, un agente antiviral, un agente anti-inflamatorio esteroideo, un agente anti-inflamatorio no esteroideo, un agente anestésico, un agente antipruriginoso, un agente antiprotozoario, un anti-oxidante adecuado, un agente antineoplásico, un inmunomodulador, un interferón, un antidepresivo, un anti-histamínico, una vitamina, y una hormona.

60 Los antibióticos adecuados para su uso en este contexto de la presente invención incluyen, sin limitación, peróxido de benzoílo, octopirox, eritromicina, zinc, tetraciclina, triclosan, ácido azelaico y sus derivados, fenoxi etanol y fenoxi propanol, acetato de etilo, clindamicina y meclociclina; sebostats tales como flavonoides; alfa y beta hidroxí ácidos; y sales biliares tales como sulfato de escimnol y sus derivados, desoxicolato y colato.

65 Ejemplos representativos de agentes antiinflamatorios no esteroides que se pueden utilizar en este contexto de la presente invención incluyen, sin limitación, oxicams, tales como piroxicam, isoxicam, tenoxicam, sudoxicam, y CP-

14.304; salicilatos, tales como aspirina, disalcid, benorilato, trilisato, safaprina, solprina, diflunisal, y fendosal; derivados del ácido acético, tales como diclofenaco, fenclofenaco, indometacina, sulindac, tolmetina, isoxepaco, furofenaco, tiopinaco, zidometacina, acematacina, fentiazaco, zomepirac, clindanac, oxepinac, felbinaco, y ketorolaco; fenamatos, tales como ácidos mefenámico, meclofenámico, flufenámico, niflúmico, y tolfenámico; 5 derivados del ácido propiónico, tales como ibuprofeno, naproxeno, benoxaprofeno, flurbiprofeno, ketoprofeno, fenoprofeno, fenbufeno, indoprofeno, piroprofeno, carprofeno, oxaprozina, pranoprofeno, miroprofeno, tioxaprofeno, suprofeno, alminoprofeno, y tiaprofenico; pirazoles, tales como fenilbutazona, oxifenbutazona, feprazona, azapropazona, y trimetazona. También se pueden emplear mezclas de estos agentes anti-inflamatorios no esteroides, así como las sales y ésteres dermatológicamente aceptables de estos agentes. Por ejemplo, 10 etofenamato, un derivado del ácido flufenámico, es particularmente útil para su aplicación tópica.

Los ejemplos representativos de los fármacos anti-inflamatorios esteroides incluyen, sin limitación, corticosteroides tales como hidrocortisona, hidroxiltriamcinolona, alfa metil dexametasona, dexametasona-fosfato, dipropionatos de beclometasona, valerato de clobetasol, desonida, desoximetasona, acetato de desoxicorticosterona, dexametasona, 15 diclorisona, diacetato de diflorasona, valerato de diflucortolona, fluadrenolona, acetónido de flucorolona, fludrocortisona, pivalato de flumetasona, acetónido de fluosinolona, fluocinonida, ésteres butílicos de flucortina, fluocortolona, acetato de fluprednido (fluprednilideno), flurandrenolona, halcinonida, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, metilprednisolona, acetónido de triamcinolona, cortisona, cortodoxona, flucetonida, fludrocortisona, diacetato de difluorasona, fluradrenolona, fludrocortisona, diacetato de difluorasona, acetónido de 20 fluradrenolona, medrisona, amcinafel, amcinafida, betametasona y el resto de sus ésteres, clorprednisona, acetato de clorprednisona, clocortelona, clescínolona, diclorisona, diflurprednato, flucoronida, flunisólida, fluorometalona, fluperolona, fluprednisolona, valerato de hidrocortisona, ciclopentilpropionato de hidrocortisona, hidrocortamato, meprednisona, parametasona, prednisolona, prednisona, dipropionato de beclometasona, triamcinolona, y mezclas de los mismos.

25 Los agentes antipruriginosos adecuados incluyen, sin limitación, sales farmacéuticamente aceptables de metdilazina y trimeprazina.

30 Los ejemplos no limitantes de fármacos anestésicos que son adecuados para su uso en el contexto de la presente invención incluyen las sales farmacéuticamente aceptables de lidocaína, bupivacaína, clorprocaína, dibucaína, etidocaína, mepivacaína, tetracaína, diclonina, hexilcaína, procaína, cocaína, ketamina, pramoxina y fenol.

Los agentes antimicrobianos adecuados, incluyendo agentes antibacterianos, antifúngicos, antiprotozoarios y 35 antivirales, para su uso en el contexto de la presente invención incluyen, sin limitación, fármacos de beta-lactama, fármacos de quinolona, ciprofloxacina, norfloxacina, tetraciclina, eritromicina, amikacina, triclosan, doxiciclina, capreomicina, clorhexidina, clortetraciclina, oxitetraciclina, clindamicina, etambutol, metronidazol, pentamidina, gentamicina, kanamicina, lineomicina, metaciclina, metenammina, minociclina, neomicina, netilmicina, estreptomina, tobramicina, y miconazol. También se incluyen clorhidrato de tetraciclina, farnesol, estolato de eritromicina, estearato de eritromicina (sal), sulfato de amikacina, clorhidrato de doxiciclina, gluconato de clorhexidina, clorhidrato de 40 clorhexidina, clorhidrato de clortetraciclina, clorhidrato de oxitetraciclina, clorhidrato de clindamicina, clorhidrato de etambutol, clorhidrato de metronidazol, clorhidrato de pentamidina, sulfato de gentamicina, sulfato de kanamicina, lineomicina, clorhidrato de metaciclina, hipurato de metenammina, mandelato de metenammina, clorhidrato de minociclina, sulfato de neomicina, sulfato de netilmicina, sulfato de paromomicina, sulfato de estreptomina, sulfato de tobramicina, clorhidrato de miconazol, clorhidrato de amanfadina, sulfato de amanfadina, triclosán, octopirox, 45 paraclorometa-xilenol, nistatina, tolnaftato y clotrimazol y mezclas de los mismos.

Los ejemplos no limitantes de antioxidantes adecuados que se pueden utilizar en el contexto de la presente invención incluyen ácido ascórbico (vitamina C) y sus sales, ésteres de ascorbilo de ácidos grasos, derivados del ácido ascórbico (por ejemplo, ascorbil fosfato de magnesio, ascorbil fosfato de sodio, sorbato de ascorbilo), tocoferol 50 (vitamina E), sorbato de tocoferol, acetato de tocoferol, otros ésteres de tocoferol, ácidos benzoicos hidroxil butilados y sus sales, ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (disponible en el mercado bajo el nombre comercial Trolox®), ácido gálico y sus ésteres de alquilo, especialmente galato de propilo, ácido úrico y sus sales y ésteres de alquilo, ácido sórbico y sus sales, ácido lipoico, amins (por ejemplo, N,N-dietilhidroxilamina, amino-guanidina), compuestos de sulfhidrilo (por ejemplo, glutatión), ácido dihidroxil fumárico y sus sales, pidolato de licina, 55 pilolato de arginina, ácido nordihidroguaiarético, bioflavonoides, cuicumín, lisina, metionina, prolina, superóxido dismutasa, silimarina, extractos de té, extractos de piel/semilla de uva, melanina, y extractos de romero.

Los ejemplos no limitantes de agentes antineoplásicos que se pueden utilizar en el contexto de la presente invención incluyen daunorubicina, doxorubicina, idarubicina, amrubicina, pirarubicina, epirubicina, mitoxantrona, etopósido, 60 tenipósido, vinblastina, vincristina, mitomicina C, 5-FU, paclitaxel, docetaxel, actinamicina D, colchicina, topotecán, irinotecán, ciclosporina gemcitabina, verapamilo, valsopodol, probenecid, MK571, GF120918, LY335979, biricodar, terfenadina, quinidina, pervilleína A y XR9576

65 Ejemplos de antidepresivos no limitantes que se pueden utilizar en el contexto de la presente invención incluyen inhibidores de la recaptación de norepinefrina ("IRN"), inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), inhibidores de la monoaminoxidasa (MAO), inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina- ("SNFI"),

antagonistas del factor de liberación de corticotropina (FLC), antagonistas  $\alpha$ -adrenérgicos, antagonistas del receptor de NK1, agonistas, antagonistas y agonistas parciales de los receptores 5-HT<sub>1A</sub> y antidepresivos atípicos, así como inhibidores de la recaptación de norepinefrina tales como, pero no limitado a la amitriptilina, desmetilamitriptilina, clomipramina, doxepina, imipramina, óxido de imipramina, trimipramina; adinazolam, amitriptilinoxido, amoxapina, desipramina, maptotilina, nortriptilina, protriptilina, amineptina, metupriptilina, demexiptilina, dibencepina, dimetacrina, dotiepina, fluacicina, iprindol, lofepramina, melitraceno, metapramina, norclolipramina, noxiptilina, opipramol, perlapina, pizotilina, propicepina, quinupramina, reboxetina, tianeptina, e inhibidores de la recaptación de serotonina, tales como, pero no limitado a, binedalina, m-cloropiperazina, citalopram, duloxetina, etoperidona, femoxetina, fluoxetina, fluvoxamina, indalpina, indeloxazina, milnacipran, nefazodona, oxaflazona, paroxetina, prolintano, ritanserina, sertralina, tandaspirona, venlafaxina y zimeldina.

Ejemplos no limitantes de vitaminas utilizables en el contexto de la presente invención incluyen vitamina A y sus análogos y derivados: retinol, retinal, palmitato de retinilo, ácido retinoico, tretinoína, iso-tretinoína (conocidos colectivamente como retinoides), vitamina E (tocoferol y sus derivados), vitamina C (ácido L-ascórbico y sus ésteres y otros derivados), vitamina B<sub>3</sub> (niacinamida y sus derivados), alfa hidroxí ácidos (tales como ácido glicólico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido málico, ácido cítrico, etc.) y beta hidroxí ácidos (tales como ácido salicílico y similares).

Los ejemplos no limitantes de principios activos dermatológicos utilizables en el contexto de la presente invención incluyen aceite de jojoba y aceites aromáticos tales como salicilato de metilo, gaulteria, aceite de menta, aceite de laurel, aceite de eucalipto y aceites de cítricos, así como fenolsulfonato de amonio, subgalato de bismuto, fenolsulfonato de zinc y salicilato de zinc. Los ejemplos no limitantes de agentes antifúngicos incluyen miconazol, clotrimazol, butoconazol, fenticonazol, tioconazol, terconazol, sulconazol, fluconazol, haloproquina, ketonazol, ketoconazol, oxinazol, econazol, itraconazol, terbinafina, nistatina y griseofulvina.

Ejemplos no limitantes de antihistamínicos que se pueden usar en el contexto de la presente invención incluyen clorfeniramina, bromfeniramina, dexclorfeniramina, tripolidina, clemastina, difenhidramina, prometazina, piperazinas, piperidinas, astemizol, loratadina y terfenadina.

Hormonas adecuadas para su uso en el contexto de la presente invención incluyen, por ejemplo, compuestos androgénicos y compuestos de progestina.

Ejemplos representativos de compuestos androgénicos incluyen, sin limitación, metiltestosterona, androsterona, acetato de androsterona, propionato de androsterona, benzoato de androsterona, androsteronadiol, androsteronadiol-3-acetato, androsteronadiol-17-acetato, androsteronadiol-3-17-diacetato, androsteronadiol-17-benzoato, androsteronadiona, androstenediona, androstenediol, dehidroepiandrosterona, sulfato de sodio de dehidroepiandrosterona, dromostanolona, propionato de dromostanolona, etilestrenol, fluoximesterona, fenpropionato de nandrolona, decanoato de nandrolona, furilpropionato de nandrolona, ciclohexano-propionato de nandrolona, benzoato de nandrolona, ciclohexanocarboxilato de nandrolona, androsteronadiol-3-acetato-1-7-benzoato, oxandrolona, oximetolona, estanozolol, testosterona, decanoato de testosterona, 4-dihidrotestosterona, 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona, testolcatona, 17 $\alpha$ -metil-19-nortestosterona y ésteres farmacéuticamente aceptables y sales los mismos, y combinaciones de cualquiera de los anteriores.

Ejemplos representativos de compuestos de progestina incluyen, sin limitación, desogestrel, didrogestrona, diacetato de etinodiol, medroxiprogesterona, levonorgestrel, acetato de medroxiprogesterona, caproato de hidroxiprogesterona, noretindrona, acetato de noretindrona, noretinodrel, alilestrenol, 19-nortestosterona, linoestrenol, acetato de quingestanol, medrogestona, norgestrienona, dimetisterona, etisterona, acetato de ciproterona, acetato de clormadinona, acetato de megesterol, norgestimato, norgestrel, desogestrel, trimegestona, gestodeno, acetato de nomegestrol, progesterona, sulfato de 5 $\alpha$ -pregnan-3 $\beta$ ,20 $\alpha$ -diol, sulfato de 5 $\alpha$ -pregnan-3 $\beta$ ,20 $\beta$ -diol, 5 $\alpha$  pregnan-3 $\beta$ -ol-20-ona, 16,5 $\alpha$ -pregnen-3 $\beta$ -ol-20-ona, 4-pregnen-20 $\beta$ -ol-3-ona-20-sulfato, acetoxipregnenolona, acetato de anagestona, ciproterona, dihidrogestrona, acetato de flurogestona, gestadeno, acetato de hidroxiprogesterona, hidroximetilprogesterona, acetato de hidroximetil progesterona, 3-cetodesogestrel, megesterol, acetato de melengestrol, noretisterona y mezclas de los mismos.

En cualquiera de las diferentes formas de realización del método de la presente invención, se puede proporcionar tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101) a un sujeto, ya sea por sí mismo, o como parte de una composición farmacéutica donde se mezcla con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Por lo tanto, según otro aspecto de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica, que comprende tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101) con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Preferentemente, la concentración de tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101) en el vehículo varía de aproximadamente el 0,01 por ciento en peso a aproximadamente el 50 por ciento en peso, más preferentemente de aproximadamente el 0,1 por ciento en peso a aproximadamente el 25 por ciento en peso, del total peso de la composición.

Tal como se usa en el presente documento una "composición farmacéutica" se refiere a una preparación de tricloro

(dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101) con otros componentes químicos tales como vehículos y excipientes fisiológicamente adecuados. El fin de una composición farmacéutica es facilitar la administración de un compuesto al sujeto tratado.

5 De aquí en adelante, las frases "vehículo fisiológicamente aceptable" y "vehículo farmacéuticamente aceptable" que se pueden utilizar indistintamente se refieren a un vehículo o un diluyente que no causa irritación significativa al sujeto y no anula la actividad biológica y las propiedades del compuesto administrado. Tal como se utiliza en el presente documento, el término "vehículo" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el que se administra el agente terapéutico.

10 En el presente documento, el término "excipiente" se refiere a una sustancia inerte añadida a una composición farmacéutica para facilitar aún más la administración de un principio activo. Ejemplos, sin limitación, de excipientes incluyen carbonato de calcio, fosfato de calcio, diversos azúcares y tipos de almidón, derivados de celulosa, gelatina, aceites vegetales y polietilenglicoles.

15 Las técnicas para la formulación y administración de fármacos se pueden encontrar en "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Co., Easton, PA, última edición, que se incorpora en el presente documento por referencia.

20 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden fabricar por procesos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, por medio de procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, fabricación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización.

25 Las composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con la presente invención se pueden formular de manera convencional usando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y adyuvantes, que facilitan el procesamiento de los principios activos en preparaciones que se pueden usar farmacéuticamente. La formulación apropiada depende de la vía de administración elegida.

30 Para la inyección, los principios activos de la invención se pueden formular en soluciones acuosas, preferentemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como solución de Hank, solución de Ringer, o tampón salino fisiológico.

35 Para la administración transmucosa, en la formulación se utilizan penetrantes apropiados a la barrera a permear. Dichos penetrantes generalmente son conocidos en la técnica.

40 Para la administración oral, los compuestos se pueden formular fácilmente combinando los compuestos activos con vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Dichos vehículos permiten que los compuestos de la invención se formulen como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, pastas, suspensiones, y similares, para la ingestión oral por un paciente. Las preparaciones farmacológicas para su uso oral se pueden preparar usando un excipiente sólido, moliendo opcionalmente la mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos, después de añadir adyuvantes adecuados si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Los excipientes adecuados son, en particular, cargas tales como azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparaciones de celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma de tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carbometilcelulosa de sodio; y/o polímeros fisiológicamente aceptables, tales como polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, se pueden añadir agentes disgregantes, tales como polivinilpirrolidona reticulada, agar, o ácido alginico o una sal del mismo tal como alginato de sodio.

50 Los núcleos de grageas se proporcionan con recubrimientos adecuados. Para este fin, se pueden usar soluciones concentradas de azúcar, que pueden contener opcionalmente goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, gel carbopol, polietilenglicol, dióxido de titanio, soluciones de laca y disolventes orgánicos o mezclas de disolventes adecuados. Se pueden añadir colorantes o pigmentos a los comprimidos o recubrimientos de las grageas para su identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuestos activos.

55 Las composiciones farmacéuticas, que se pueden usar por vía oral, incluyen cápsulas de ajuste suave hechas de gelatina, así como cápsulas blandas selladas hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas de ajuste suave pueden contener los principios activos mezclados con una carga tal como lactosa, aglutinantes tales como almidones, lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas, los principios activos pueden estar disueltos o suspendidos en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida, o polietilenglicoles líquidos. Además, se pueden añadir estabilizantes. Todas las formulaciones para administración oral deben estar en dosis adecuadas para la vía de administración elegida.

65 Para la administración bucal, las composiciones pueden adoptar la forma de comprimidos o pastillas formuladas de manera convencional.

5 Para la administración por inhalación nasal, los principios activos para su uso de acuerdo con la presente invención se suministran convenientemente en forma de una presentación de pulverización de aerosol en un envase presurizado o un nebulizador con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano o dióxido de carbono. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación se puede determinar proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida. Las cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina para su uso en un dispensador se pueden formular para que contengan una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

10 Las preparaciones descritas en este documento se pueden formular para la administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección de bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en recipientes multidosis opcionalmente, con un conservante añadido. Las composiciones pueden ser suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes.

15 Las composiciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de la preparación activa en forma soluble en agua. Adicionalmente, las suspensiones de los principios activos se pueden preparar como suspensiones para inyección oleosas o a base de agua apropiadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos tales como oleato de etilo, triglicéridos o liposomas. Las suspensiones acuosas para inyección pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tales como carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes o agentes adecuados que aumentan la solubilidad de los principios activos para permitir la preparación de soluciones muy concentradas.

20 Como alternativa, el principio activo puede estar en forma de polvo para su constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, una solución a base de agua estéril libre de pirógenos, antes de su uso.

25 La preparación de la presente invención también se puede formular en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, usando, por ejemplo, bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

30 La cantidad de una composición para su administración, por supuesto, dependerá del sujeto a tratar, la gravedad de la afección, el modo de administración, el criterio del médico que prescribe, etc.

35 También se pueden preparar composiciones que incluyen la preparación de la presente invención formulada en un vehículo farmacéutico compatible, ponerse en un recipiente apropiado y etiquetarse para el tratamiento de una afección indicada.

40 Las composiciones de la presente invención, si se desea, se pueden presentar en un envase o dispositivo dispensador, tal como un kit aprobado por la FDA, que puede contener una o más formas de dosificación unitaria que contienen el principio activo. El paquete, por ejemplo, puede comprender vidrio, láminas de plástico, tal como un envase de blíster. El envase o dispositivo dispensador puede ir acompañado de instrucciones para su administración. El envase o dispositivo dispensador puede presentar una notificación asociada al recipiente en una forma prescrita por una agencia gubernamental que regula la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos, notificación que es un reflejo de la aprobación por la agencia de la forma de las composiciones para la administración humana o veterinaria. Dicha notificación, por ejemplo, puede ser el etiquetado aprobado por la Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos para medicamentos recetados o un inserto de producto aprobado.

45 La composición farmacéutica descrita en el presente documento como alternativa se puede formular en una forma adecuada para la aplicación tópica en la zona tratada.

50 Por lo tanto, las composiciones de la presente invención, por ejemplo, pueden estar en forma de una crema, una pomada, una pasta, un gel, una loción, una leche, una suspensión, un aerosol, una pulverización, una espuma, un champú, un acondicionador para el cabello, un suero, un hisopo, una compresa, una almohadilla, un parche y un jabón.

55 Los ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables que son adecuados para composiciones farmacéuticas para aplicaciones tópicas incluyen materiales de vehículo que son bien conocidos para su uso en las técnicas cosméticas y médicas como bases, por ejemplo, para emulsiones, cremas, soluciones acuosas, aceites, ungüentos, pastas, geles, lociones, leches, espumas, aerosoles y similares, dependiendo de la forma final de la composición,

60 Los ejemplos representativos de vehículos adecuados de acuerdo con la presente invención por lo tanto incluyen, sin limitación, agua, alcoholes líquidos, glicoles líquidos, polialquilenglicoles líquidos de, ésteres líquidos, amidas líquidas, hidrolisatos de proteína líquida, hidrolizados de proteínas alquiladas líquidas, lanolina líquida y derivados de lanolina, y materiales similares empleados habitualmente en composiciones cosméticas y medicinales.

Otros vehículos adecuados de acuerdo con la presente invención incluyen, sin limitación, alcoholes, tales como, por ejemplo, alcoholes monohídricos y polihídricos, por ejemplo, etanol, isopropanol, glicerol, sorbitol, 2-metoxietanol, dietilenglicol, etilenglicol, hexilenglicol, manitol, y propilenglicol; éteres tales como dietil o dipropil éter; polietilenglicoles y metoxipolioxietilenos (carboceras que tienen un peso molecular que varía de 200 a 20.000); polioxietilen gliceroles, polioxietilen sorbitol, estearoil diacetina, y similares.

Por lo tanto, dependiendo de la afección a tratar y la forma de la composición, la concentración del compuesto que contiene telurio puede ser, por ejemplo, del 0,01 por ciento en peso, 0,05 por ciento en peso, 0,1 por ciento en peso, 0,5 por ciento en peso, 1 por ciento en peso, 2 por ciento en peso, 3 por ciento en peso, 4 por ciento en peso o 5 por ciento en peso. Preferentemente, la concentración del compuesto que contiene telurio es del 5 por ciento de peso y superiores y por lo tanto puede ser, por ejemplo, del 5 por ciento en peso, 6 por ciento en peso, 7 por ciento en peso, 8 por ciento en peso, 9 por ciento en peso o 10 por ciento en peso. También se pueden emplear concentraciones más altas al 10 por ciento en peso y por lo tanto, la concentración de los compuestos puede ser, por ejemplo, del 20 por ciento en peso, 25 por ciento en peso, 30 por ciento en peso, 40 por ciento en peso, 50 por ciento en peso, 60 por ciento en peso, 70 peso porcentajes, 80 por ciento en peso, y pueden ser de hasta el 85 por ciento en peso del peso total de la composición.

Cada una de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento puede comprender, además, de acuerdo con una realización de la presente invención un principio activo adicional, tal como se describe anteriormente en este documento.

Cada una de las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento opcionalmente puede comprender además varios componentes que son adecuados para proporcionar a las composiciones ventajas de uso adicionales. Dichos componentes opcionales convencionales son bien conocidos por los expertos en la técnica y se denominan en el presente documento como "ingredientes". Algunos ejemplos representativos no limitantes de estos ingredientes incluyen humectantes, desodorantes, antitranspirantes, agentes de protección solar, agentes de bronceado sin sol, agentes de acondicionamiento del cabello, agentes de ajuste del pH, agentes quelantes, conservantes, emulsionantes, agentes oclusivos, emolientes, espesantes, agentes solubilizantes, potenciadores de la penetración, anti-irritantes, colorantes, agentes propulsores y agentes tensioactivos.

Así, por ejemplo, las composiciones de la presente invención pueden comprender humectantes o agentes hidratantes. Los ejemplos representativos de agentes humectantes que se pueden utilizar en este contexto de la presente invención incluyen, sin limitación, guanidina, ácido glicólico y sales de glicolato (por ejemplo sales de amonio y sales de alquilamonio cuaternario), aloe vera en cualquiera de su variedad de formas (por ejemplo, gel de aloe vera), alantoina, urazol, alcoholes polihidroxilados tales como sorbitol, glicerol, hexanotriol, propilenglicol, butilenglicol, hexilenglicol y similares, polietilenglicoles, azúcares y almidones, derivados de azúcares y de almidones (por ejemplo, glucosa alcoxilada), ácido hialurónico, lactamida monoetanolamina, acetamida monoetanolamina y cualquier combinación de los mismos.

Las composiciones de la presente invención pueden comprender además un agente de ajuste del pH. La adición de un agente de ajuste del pH es particularmente preferida cuando las composiciones se aplican tópicamente sobre la piel. El pH de estas áreas tratadas suele ser inferior a 6,0. Por lo tanto, es preferible que las composiciones de la presente invención tengan un valor de pH entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7, preferentemente entre aproximadamente 4 y aproximadamente 6, a fin de evitar irritaciones en la piel o la inducción de desequilibrios en la población de bacterias, si se trata de las áreas genitales. Los agentes de ajuste del pH adecuados incluyen, por ejemplo, uno o más de los ácidos adípico, glicinas, ácidos cítricos, hidróxidos de calcio, aluminometasilicatos de magnesio, tampones o cualquiera de sus combinaciones.

Ejemplos representativos de agentes desodorantes que se pueden utilizar en el contexto de la presente invención incluyen, sin limitación, compuestos de amonio cuaternario tales como bromuro de cetil-trimetilamonio, cloruro de cetil piridinio, cloruro de bencetonio, cloruro de diisobutil fenoxi etoxi etil dimetil bencil amonio, N-lauril sarcosina de sodio, N-palmitil sarcosina de sodio, lauroil sarcosina, N-miristoilo de glicina, N-lauril sarcosina de potasio, estearilo, cloruro de trimetil amonio, clorohidroxilato de sodio y aluminio, cloruro de tricetilmetil amonio, 2,4,4'-tricloro-2'-hidroxil difenil éter, diaminoalquil amidas tales como L-lisina hexadecil amida, sales de metales pesados de citrato, salicilato y piroctosa, especialmente sales de zinc y ácidos de los mismos, sales de metales pesados de piritona, especialmente piritona de zinc y fenolsulfato de zinc. Otros agentes desodorantes incluyen, sin limitación, materiales de absorción de olores, tales como sales de carbonato y bicarbonato, por ejemplo, como los carbonatos y bicarbonatos de metales alcalinos, carbonatos y bicarbonatos de amonio y tetraalquilamonio, especialmente las sales de sodio y las sales de potasio, o cualquier combinación de los anteriores.

Los agentes antitranspirantes se pueden incorporar en las composiciones de la presente invención, ya sea en un solubilizado o en forma de partículas e incluyen, por ejemplo, sales o complejos astringentes de aluminio o de circonio.

Los agentes quelantes se añaden opcionalmente a las composiciones de la presente invención a fin de mejorar el conservante o el sistema conservante. Los agentes quelantes preferidos son agentes leves, como, por ejemplo,

ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), derivados del EDTA, o cualquier combinación de los mismos.

Los conservantes adecuados que se pueden utilizar en el contexto de la presente composición incluyen, sin limitación, uno o más alcanoles, EDTA de disodio (tetraacetato de etilendiamina), sales de EDTA, los conjugados de  
5 ácidos grasos de EDTA, isotiazolinona, parabenos, tales como metilparabeno y propilparabeno, propilenglicoles, sorbatos, derivados de urea tales como diazolidinil urea, o cualquier combinación de los mismos.

Los emulsionantes adecuados que se pueden utilizar en el contexto de la presente invención incluyen, por ejemplo, uno o más sorbitanos, alcoholes grasos alcoxilados, alquilpoliglicósidos, jabones, alquilsulfatos, monoalquil y  
10 dialquilsulfatos, alquilsulfonatos, acilisetionatos, o cualquier combinaciones de los mismos.

Los agentes adecuados oclusivos que se pueden utilizar en el contexto de la presente invención incluyen, por ejemplo, vaselina, aceite mineral, cera de abejas, aceite de silicona, lanolina y derivados de lanolina solubles en aceite, alcoholes grasos saturados e insaturados tales como alcohol behenílico, hidrocarburos tales como escualano y diversos aceites animales y vegetales como el aceite de almendras, aceite de cacahuete, aceite de germen de trigo, aceite de linaza, aceite de jojoba, aceite de hueso de albaricoque, nueces, nueces de palma, nueces de pistacho, semillas de sésamo, semillas de colza, aceite de cade, aceite de maíz, aceite de hueso de melocotón, aceite de semilla de amapola, aceite de pino, aceite de ricino, aceite de soja, aceite de aguacate, aceite de cártamo, aceite de coco, aceite de avellana, aceite de oliva, aceite de semilla de uva y aceite de semilla de girasol.  
15 20

Los emolientes adecuados, que se pueden utilizar en el contexto de la presente invención incluyen, por ejemplo, dodecano, escualano, colesterol, isohexadecano, isononanoato de isononilo, éteres de PPG, vaselina, lanolina, aceite de cártamo, aceite de ricino, aceite de coco, aceite de semilla de algodón, aceite de almendra de palma, aceite de palma, aceite de cacahuete, aceite de soja, ésteres de poliol de ácido carboxílico, derivados de los mismos y mezclas de los mismos.  
25

Los espesantes adecuados que se pueden utilizar en el contexto de la presente invención incluyen, por ejemplo, polímeros no iónicos solubles en agua tales como hidroxietilcelulosa (disponible en el mercado bajo la marca Natrosol™ 250 o 350), polímeros catiónicos solubles en agua tales como Policuat 37 (disponible en el mercado bajo la marca comercial Synthalen™ CN), alcoholes grasos, ácidos grasos y sus sales alcalinas y sus mezclas.  
30

Los ejemplos representativos de agentes solubilizantes que se pueden utilizar en este contexto de la presente invención incluyen, sin limitación, solubilizantes formadores de complejos tales como ácido cítrico, etilendiamina-tetraacetato, meta-fosfato de sodio, ácido succínico, urea, ciclodextrina, polivinilpirrolidona, orto-benzoato de dietilamonio, y solubilizantes formadores de micelas tales como Tweens y Spans, por ejemplo, Tween 80. Otros solubilizantes que se pueden utilizar para las composiciones de la presente invención son, por ejemplo, éster de polioxietileno sorbitán de ácido graso, éteres de polioxietileno n-alquilo, n-óxidos de n-alquil amina, poloxámeros, disolventes orgánicos, fosfolípidos y ciclodextrinas.  
35 40

Los potenciadores de la penetración adecuados que se pueden usar en el contexto de la presente invención incluyen, pero no están limitados a, dimetilsulfóxido (DMSO), dimetil formamida (DMF), alantoína, urazol, N,N-dimetilacetamida (DMA), decilmetilsulfóxido (C<sub>10</sub> MSO), monolaurato de polietileno (PEGML), propilenglicol (PG), monolaurato de propilenglicol (PGML), monolaurato de glicerol (GML), lecitina, las azacicloheptan-2-onas 1-sustituidas, particularmente 1-n-dodecilciclazacicloheptan-2-ona (disponible bajo la marca comercial Azone™ de Whitby Research Incorporated, Richmond, Va.), alcoholes, y similares. El potenciador de la penetración también puede ser un aceite vegetal. Dichos aceites incluyen, por ejemplo, aceite de cártamo, aceite de semilla de algodón y aceite de maíz.  
45

Los anti-irritantes adecuados que se pueden utilizar en el contexto de la presente invención incluyen, por ejemplo, agentes antiinflamatorios esteroides y no esteroides u otros materiales tales como aloe vera, manzanilla, alfa-bisabolol, extracto de cola nitida, extracto de té verde, aceite de árbol del té, extracto de regaliz, alantoína, cafeína u otras xantinas, ácido glicirrónico y sus derivados.  
50

Las composiciones de la presente invención se pueden envasar o presentarse en cualquier forma conveniente. Por ejemplo, se pueden envasar en un tubo, sustratos moteados, o un contenedor presurizado, utilizando técnicas bien conocidas para los expertos en la técnica y como se establece en obras de referencia como Remington's Pharmaceutical Science 15a Ed. Se prefiere que el embalaje se realice de tal manera que se minimice el contacto de las composiciones utilizadas con el medio ambiente, con el fin de minimizar la contaminación de las composiciones antes y a continuación de abrir el envase.  
55 60

Las composiciones se identifican preferentemente en la impresión, en o sobre el material de embalaje, para su uso en el tratamiento de afecciones relacionadas con la ECI.

Los objetos adicionales, ventajas y características novedosas de la presente invención serán evidentes para alguien de experto en la técnica tras el examen de los siguientes ejemplos, que no pretenden ser limitantes. Además, cada una de las diversas realizaciones y aspectos de la presente invención tal como se exponen anteriormente y como se  
65

reivindican en la sección de reivindicaciones a continuación encuentra apoyo experimental en los siguientes ejemplos.

### Ejemplos

5 Ahora se hace referencia a los siguientes ejemplos, que junto con las descripciones anteriores, ilustran la invención de una manera no limitante.

### Materiales y métodos

#### 10 Cultivo de células:

15 Células mononucleares de sangre periférica humana (PBMC) se aislaron de donantes sanos seleccionados al azar por centrifugación en gradiente de densidad Ficoll-Hypaque (Pharmacia, Piscataway, NJ). Las PBMC se ajustaron a  $2,5 \times 10^6$  células/ml y se cultivaron en medio RPMI 1640 enriquecido (Biological Industries, Beit Haemek Kibbutz, Israel) con el 10 % de FCS (Biological Industries) a 37 °C y el 7 % de CO<sub>2</sub>.

20 Queratinocitos humanos HaCaT se ajustaron a  $1 \times 10^6$  células/ml y se cultivaron a 37 °C y el 7 % de CO<sub>2</sub> en medio de Eagle modificado enriquecido de Dulbecco (DMEM) (Biological Industries, Kibbutz Beit Haemek, Israel), suplementado con el 10 % de FCS (Biological Industries).

Se encontró que la viabilidad, tal como se evalúa por el método de exclusión con azul de tripano, siempre es > 95 %.

#### 25 Animales:

Ratones C57BL/6J y BALB/c macho y hembra de 6-12 semanas de edad fueron criados en la Universidad Bar Ilan de cepas obtenidas de Harlan Laboratories, Israel. Los experimentos con animales se realizaron de acuerdo con protocolos institucionales aprobados y aprobadas por el Comité institucional de cuidado y uso de animales.

#### 30 Reactivos:

35 Se aplicaron los siguientes antígenos bacterianos, anticuerpos y péptidos: cepa Cowan de *Staphylococcus aureus* inactivada por calor (SAC ( $10^{-3}$  v/v; Calbiochem, Bad Homburg, Alemania), lipopolisacárido [LPS (40-60 ng/ml, *in vitro*) y (0,5 mg/ratón, *in vivo*); *Salmonella Enteritidis*, Sigma Aldrich, Rehovot, Israel), Forbol-L2-miristato-13-acetato (PMA (5-15 ng/ml); Sigma Aldrich, Rehovot, Israel), IgG que neutraliza el IFN- $\gamma$  dirigido contra humano (0,1 mg/ml; R & D Systems, Minneapolis, MN), el inhibidor de NOS, metiléster de L-nitroarginina (L-NAME), y su análogo inactivo, metiléster de D-nitroarginina (D-NAME) (20 nM; Sigma, Munich, Alemania). rCaspase-1 y el inhibidor específico (Ac-YVAD-CHO) (Biomol International Industries LP, Canadá). Sustrato colorimétrico Caspasa-1 (Ac-YVAD-pNA) (Alexis Biochemicals, Inc. San Diego, California).

40 El AS101 fue suministrado por M. Albeck del departamento de química de la Universidad Bar Ilan, en una solución de PBS, pH 7,4, y mantenido a 4 °C.

#### 45 Inducción de la secreción de citoquinas *in vitro* e *in vivo*:

##### Ensayos *in vitro*:

50 Las células fueron tratadas primero con diversas concentraciones de AS101 y a continuación de 1 hora se añadió SAC. Después de 24 horas, se recogieron los sobrenadantes y se evaluaron para el contenido de citoquinas. Se encuentra que la viabilidad al final de estos experimentos, tal como se evaluó por el método de exclusión con azul de tripano, siempre es > 95 %.

##### Ensayos *in vivo*:

55 Para la evaluación de citoquinas en suero, se inyectaron PBS o AS101 por vía intraperitoneal (ip) 2 horas después del tratamiento con LPS. Para los experimentos de supervivencia se inyectó AS101 ip diariamente a las diversas concentraciones de partida 1 hora y hasta 24 horas después del LPS hasta el final del experimento.

#### 60 Cuantificación de los niveles de citoquinas:

Se utilizaron los kits de ELISA de IL-18 e IL-1 $\beta$  de R&D Systems (Minneapolis, MN) para la medición cuantitativa de estas citoquinas, en sobrenadantes o en sueros de los ratones.

#### 65 Actividad de la caspasa-1, ensayo enzimático:

El DTT, que está presente en la solución de enzima comercial, interactúa con AS101 y por lo tanto interferiría con los

estudios de inhibición. Por lo tanto era necesario la eliminación del DTT de la solución de enzima antes del ensayo enzimático. Se llevó a cabo la cromatografía de permeación en gel a 4 °C. Se cargó una solución de 50 µl de rCaspase-1 comercial activa en una columna de Sephadex G-15 de 1 x 15 cm (Pharmacia), previamente equilibrada con tampón de ensayo que contiene: Hepes 50 mM, NaCl 100 mM, 0,1 % de CHAPS, EDTA 1 mM, 10 % de glicerol a pH 7,4. La enzima se eluyó con el mismo tampón (desgasificado) a 0,5 ml/minuto y se recogieron fracciones de 500 µl. La reacción enzima-sustrato se midió continuamente con intervalos de 1 min para un tiempo total de 1 hora a 30 °C y se leyó a 405 nm. El volumen total de la reacción fue 100 µl y contenía lo siguiente: 50 µl de rCaspase-1 (0,8 U/µl), sustrato colorimétrico 25 µl (Ac-YVAD-pNA, 200 µM), 25 µl de AS101 a diversas concentraciones (2,5 µM, 5 µM, 10 µM) en tampón de ensayo.

#### **Análisis de transferencia Western:**

Se prepararon extractos de células totales mediante suspensión en tampón de lisis enfriado en hielo que contiene Tris 50 mM (pH 8,0), NaCl 150 mM, 1 % NP-40, 0,1 % de SDS, EDTA 5 mM, PMSF 0,2 mM, NaF 50, vanadato de sodio 200 mM, 5 mg/ml de aprotinina y 5 mg/ml de leupeptina. Los lisados celulares se hirvieron durante 5 min y se sometieron a electroforesis en un gel al 15 % de SDS-PAGE y a continuación se transfirieron con anticuerpos monoclonales IL-18 (R & D Systems, Minneapolis, MN). Las transferencias se revelaron utilizando anticuerpos secundarios conjugados con peroxidasa de rábano picante y el sistema de detección ECL (Amersham Pharmacia Biotech).

#### **Extracción de ARN y RT-PCR de IL-18:**

El ARN total se preparó a partir de queratinocitos humanos tratados o no tratados mediante el uso de Tri-reagent (Sigma Aldrich, Rehovot, Israel). Se sintetizó ADNc cebado con oligo(dt) usando 2 µg de ARN total. Se diseñaron pares de cebadores específicos de citoquinas de ARNm/ADNc y se realizó la PCR con los siguientes pares de cebadores (5 µM cada uno): IL-18 (producto de 558 pb): 178-201 [5'-ATGGCTGCTGAACAGTAGAAGAC-3'], 735-759 [5'-CTAGTCTTCGTTTTGAACAGTGAAC-3']. Las condiciones de los ciclos fueron 95 °C, 4 minutos; 94 °C, 1 minuto, 65 °C, 1 minuto; y 72 °C, 1 minuto durante 29 ciclos. Se utilizó GPDH (gliceraldehído ~ fosfato-deshidrogenasa, producto de 500 pb) como control: [5'-CACAGTCCATGCCATCACTG-3'], [5'-TACTCCTTGGAGGCCATGTG-3']. Los productos amplificados se visualizaron usando tinción con bromuro de etidio.

#### **Análisis estadístico:**

Los datos se presentan como media ± SE. Para las comparaciones de las medias de los diversos grupos, se utilizó la prueba t por parejas. Las curvas de supervivencia se analizaron estadísticamente mediante la comparación del porcentaje acumulado de supervivencia usando el ensayo de Gehan-Wilcoxon.

### **RESULTADOS EXPERIMENTALES**

#### **Inhibición de la caspasa-1/enzima convertidora de IL-1-β (ECI) por AS101 de una manera dependiente de la concentración:**

AS 101 se sometió a ensayo por su posible actividad inhibitoria frente a un miembro de la familia de la cisteína proteasa, la caspasa-1 (enzima convertidora de interleucina-β, ECI). La reacción enzimática se llevó a cabo con el sustrato colorimétrico específico de la caspasa-1, Ac-YVAD-pNA, y en ausencia o presencia de AS 101 a diferentes concentraciones. La actividad enzimática se analizó durante 1 hora y se mide a 405 nm.

Como se muestra en la Figura 1, la medición de la actividad enzimática, expresada como porcentaje de actividad enzimática residual, muestra que AS101 inhibe directamente la actividad de la ECI, de una manera dependiente de la concentración. 0 µM en el gráfico representa la actividad de la enzima en ausencia de AS101, como control positivo. Se añadió un inhibidor específico de la caspasa-1 (Ac-YVAD-CHO) a la concentración de 0,1 µM como control interno para el ensayo (datos no mostrados).

\*p <0,05 disminución vs caspasas-1 (0), \*\* p <0,01 disminución vs caspasa-1 (0). Los resultados representan la media ± SE de dos experimentos.

#### **Efecto inhibitor de AS101 sobre los niveles extracelulares de la secreción inducida por SAC de IL-18 e IL-1β activas por PMBC:**

Con el fin de determinar si AS101 es capaz de inhibir dos sustratos de la ECI, IL-18 y IL-1-β, se utilizó SAC (cepa Cowan de *Staphylococcus aureus*) como antígeno bacteriano que puede estimular las PMBC para producir y secretar estas dos citoquinas inflamatorias altamente activas. Las PMBC (2,5 x 10<sup>6</sup> células/ml) se trataron con varias concentraciones de AS101 y a continuación de 1 hora se estimularon con SAC (10<sup>-3</sup> v/v). Los resultados representan la media ± SE de tres experimentos \*\* p <0,05 disminución vs SAC; \* p <0,01 disminución vs SAC. La concentración óptima de SAC para la estimulación de la secreción de citoquinas era de 10<sup>-3</sup> v/v (datos no mostrados).

El tratamiento con AS101 demostró que disminuye los niveles de secreción inducida por SAC de IL-18 (Figura 2a) e IL-1- $\beta$  (Figura 2B) después de 24 horas, de una manera dependiente con la concentración. La disminución de la secreción de IL-18 e IL- $\beta$  parte de forma significativa de 0,5 a 1  $\mu\text{g/ml}$  ( $p < 0,05$ ) y de 1,5 a 2  $\mu\text{g/ml}$  ( $p < 0,01$ ).

5 **Efecto inhibitor de AS101 sobre los niveles intracelulares de LPS y la forma activa inducida por PMA de IL-18 en los queratinocitos humanos HaCaT:**

10 La IL-18 se produce constitutivamente por los queratinocitos después del tratamiento con LPS o PMA. Con el fin de determinar si el efecto inhibitor de AS101 en la formación de la forma activa de IL-18 es consistente y se repetirá en otro tipo de célula cultivada, se realizó el análisis de Western Blot de las proteínas celulares totales de queratinocitos humanos HaCaT con anticuerpos dirigidos IL-18. Las concentraciones de PMA (10 ng/ml) y LPS (50 ng/ml), eran óptimas para la producción de IL-18.

15 Se preincubaron durante 2 horas queratinocitos cultivados ( $1 \times 10^6$  células/ml) con AS101 (1  $\mu\text{g/ml}$ ) y a continuación se trataron con PMA o LPS. La expresión de IL-18 se evaluó mediante análisis de WB, mientras que se utilizó  $\alpha$ -tubulina como control interno. Cada línea se cargó con 30  $\mu\text{g}$  de proteínas totales de los queratinocitos humanos que se dejaron sin tratar (control) o se trataron con PMA (Figura 3a) o LPS (Figura 3b) y se trataron con AS101 (Figura 3c).

20 Los resultados muestran que el pretratamiento de los queratinocitos con AS101 (1  $\mu\text{g/ml}$ ) usando las concentraciones óptimas de PMA y LPS, produce una disminución en las cantidades de la forma activa de IL-18. Estos datos son representativos de tres experimentos diferentes.

25 **Efecto de AS101 sobre los niveles de ARNm de IL-18 en células HaCat:**

A fin de establecer si la inhibición de la producción de IL-18 se ejerce a nivel transcripcional o post-transcripcional, se examinó el efecto de AS101 sobre los niveles de ARNm de IL-18, en condiciones experimentales similares a las del experimento anterior.

30 Se estudiaron los cambios a nivel del ARNm de IL-18 cuando los queratinocitos fueron pretratados con AS101 (1  $\mu\text{g/ml}$ ) usando las concentraciones óptimas de PMA (10 ng/ml) y LPS (50 ng/ml). El ARN total se aisló de lisados de células enteras. Se utilizó GAPDH como control interno. Los queratinocitos cultivados ( $1 \times 10^6$  células/ml) se dejaron sin tratar (línea 1) o se trataron con PMA a 5 ng/ml y 10 ng/ml (línea 2 y 3 respectivamente) y con LPS a 40 ng/ml y 50 ng/ml (línea 4 y 5 respectivamente).

35 La inducción dependiente de la concentración de IL-18 por PMA o LPS en el ARNm se muestra en la Figura 4a. La Figura 4b muestra queratinocitos cultivados sin tratar (línea 1) o tratados con PMA (10 ng/ml) (línea 2) o con LPS (50 ng/ml) (línea 4) o pre-incubados durante 2 horas con AS101 (1  $\mu\text{g/ml}$ ) y a continuación tratados con PMA (10 ng/ml) (línea 3) y LPS (50 ng/ml) (línea 5), respectivamente. Los productos de la PCR se amplificaron durante 29 ciclos. No se detectaron cambios en los niveles de ARNm, independientemente de que se hubiesen pretratado o no con AS101 (Figura 4b). Estos resultados confirman que el AS101 inhibe la IL-18 en un nivel post-transcripcional. Los resultados muestran un experimento representativo de los dos realizados.

45 **Papel del óxido nítrico en la capacidad de AS101 para inhibir la actividad de la caspasa-1 y la liberación de IL-18 madura:**

Con el fin de examinar si la eliminación de NO aboga la actividad AS101 de inhibición de IL-18, se estudió el efecto de inhibitor de la óxido nítrico sintasa (L-NAME).

50 Se administró L-NAME/D-NAME (20 nM) a PBMC ( $2,5 \times 10^6$  células/ml) 2 horas antes de AS101 (0,5  $\mu\text{g/ml}$ ). Se añadió SAC ( $10^{-3}$  v/v) 1 hora después de AS101. Se recogieron los sobrenadantes después de 24 horas y se evaluaron para los niveles de IL-18.

La Figura 5 muestra que el efecto inhibitor de AS101 no disminuyó después de usar L-NAME.

55 Los resultados representan la media  $\pm$  SE de tres experimentos *in vitro*. \*  $p < 0,01$  disminución vs SAC. #  $p < 0,01$  disminución vs SAC + D-NAME. \*\*  $p < 0,01$  disminución vs SAC + L-NAME.

60 **Papel del IFN- $\gamma$  en la capacidad de AS101 para inhibir la actividad de la caspasa-1 y la liberación de IL-18 madura:**

65 Con el fin de investigar la posibilidad de que el aumento de los niveles de IFN-  $\gamma$  por AS101 pudiera tener un efecto sinérgico sobre la inhibición de IL-18, Se administró anticuerpo que neutraliza el rhIFN- $\gamma$  (0,1  $\mu\text{g/ml}$ ) a PBMC ( $2,5 \times 10^6$  células/ml) 2 horas antes de AS101 (0,5  $\mu\text{g/ml}$ ). Se añadió SAC ( $10^3$  v/v) 1 hora después de AS101. Se recogieron los sobrenadantes después de 24 horas y se evaluaron para los niveles de IL-18.

Como se muestra en la Figura 6, la neutralización de IFN- $\gamma$  utilizando anticuerpos neutralizantes dirigidos contra IFN- $\gamma$  no abroga la inhibición de IL-18.

5 Los resultados representan la media  $\pm$  SE de tres experimentos *in vitro*. \* p <0,01 disminución vs SAC. # p <0,01 disminución vs SAC + Ac neutr. IFN- $\gamma$ .

***Niveles plasmáticos de IL-18 e IL-1 $\beta$  en ratones tratados con AS101 después de la inducción de la septicemia:***

10 Se inyectaron PBS (control) y AS101 a diversas concentraciones en ratones c57BL/6J 2 horas después de la inducción de la septicemia por tratamiento con LPS (0,5 mg/ratón). 24 horas después de la inyección de LPS, los ratones fueron sacrificados y se evaluaron para la concentración plasmática de estas citoquinas con el fin de determinar si AS101 puede inhibir la producción *in vivo* de IL-18 e IL-1 $\beta$ .

15 Como se muestra en la Figura 7, a una concentración de 5  $\mu$ g/ratón y 10  $\mu$ g/ratón, AS101 inhibe significativamente los niveles de estas citoquinas,

Los resultados representan un total de 6 ratones/grupo. \*\* p <0,05 disminución vs LPS, \* p <0,01 disminución vs LPS.

20 ***Aumento de la supervivencia de los ratones tratados con AS101 después de la inducción de la septicemia:***

Con el fin de estudiar la relación entre los resultados *in vitro* e *in vivo* anteriores y el efecto de AS101 en la supervivencia de los ratones después de la inducción de la septicemia, se inyectó AS101 a una concentración de 10  $\mu$ g/ratón en ratones sépticos inducidos por LPS en diversos puntos temporales después del tratamiento con LPS (0,35 mg/ratón). Se controló la supervivencia durante 9 días.

30 Como se muestra en la Figura 8, se encontró que el tratamiento con AS101 tuvo un efecto beneficioso cuando se inyecta después de la inducción de la septicemia, en comparación con el tratamiento con AS101 24 horas antes de la inducción de la septicemia (datos no mostrados). La dosis óptima de AS101 era de 10  $\mu$ g/ratón, inyectado 6 horas después del LPS, y posteriormente cada día hasta el final del experimento.

Los resultados mostrados representan un total de 10 ratones/grupo. \* p <0,05 aumento vs LPS.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Uso de un compuesto que contiene telurio en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una afección en la que la inhibición de la enzima convertidora de interleucina-1 $\beta$  es beneficiosa, siendo dicho compuesto que contiene telurio tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101) y seleccionándose dicha afección del grupo que consiste en esclerodermia, cicatrización, envejecimiento, dermatitis atópica, melanoma metastásico, sarcoma de Kaposi y quemaduras.
- 10 2. El uso de la reivindicación 1, en el que dicho compuesto que contiene de telurio forma parte de una composición farmacéutica, dicha composición farmacéutica comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 15 3. El uso de la reivindicación 2, en el que una concentración de dicho compuesto que contiene telurio oscila de aproximadamente el 0,01 por ciento en peso a aproximadamente el 50 por ciento en peso del peso total de dicha composición.
- 20 4. El uso de la reivindicación 3, en el que una concentración de dicho al menos un compuesto que contiene telurio oscila de aproximadamente el 0,1 por ciento en peso a aproximadamente el 25 por ciento en peso del peso total de dicha composición.
- 25 5. El uso de la reivindicación 2, en el que dicha composición farmacéutica comprende además al menos un principio activo adicional.
- 30 6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto que contiene telurio y un vehículo farmacéuticamente aceptable, estando la composición envasada en un material de envasado y con identificación impresa, en o sobre dicho material de envasado, para su uso en el tratamiento de una afección en la que la inhibición de la enzima convertidora de la interleucina-1 $\beta$  es beneficiosa, en donde dicho compuesto que contiene telurio es tricloro (dioxietilen-O,O') telurato de amonio (AS101) y dicha afección se selecciona del grupo que consiste en esclerodermia, cicatrización, envejecimiento, dermatitis atópica, melanoma metastásico, sarcoma de Kaposi y quemaduras.
- 35 7. La composición de la reivindicación 6, en la que una concentración de dicho compuesto que contiene telurio oscila de aproximadamente el 0,01 por ciento en peso a aproximadamente el 50 por ciento en peso del peso total de dicha composición.
- 40 8. La composición de la reivindicación 7, en la que una concentración de dicho compuesto que contiene telurio oscila de aproximadamente el 0,1 por ciento en peso a aproximadamente el 25 por ciento en peso del peso total de dicha composición.
9. La composición de la reivindicación 6, que comprende además al menos un principio activo adicional.

**Fig. 1**

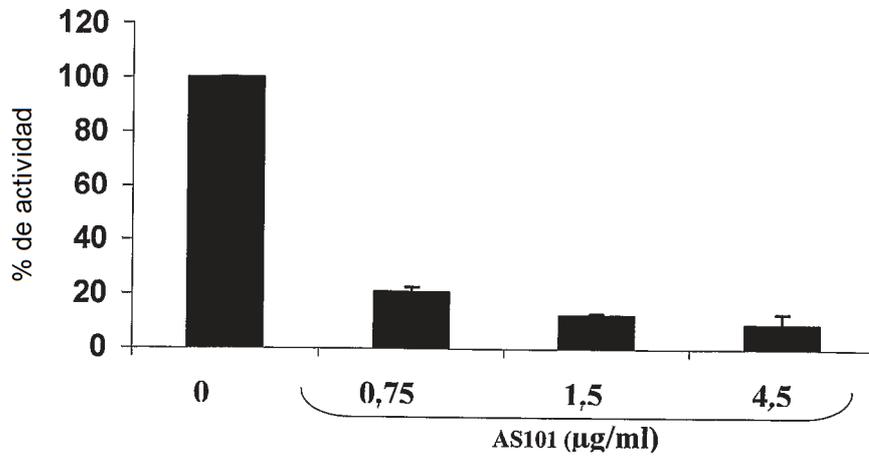


Fig. 2

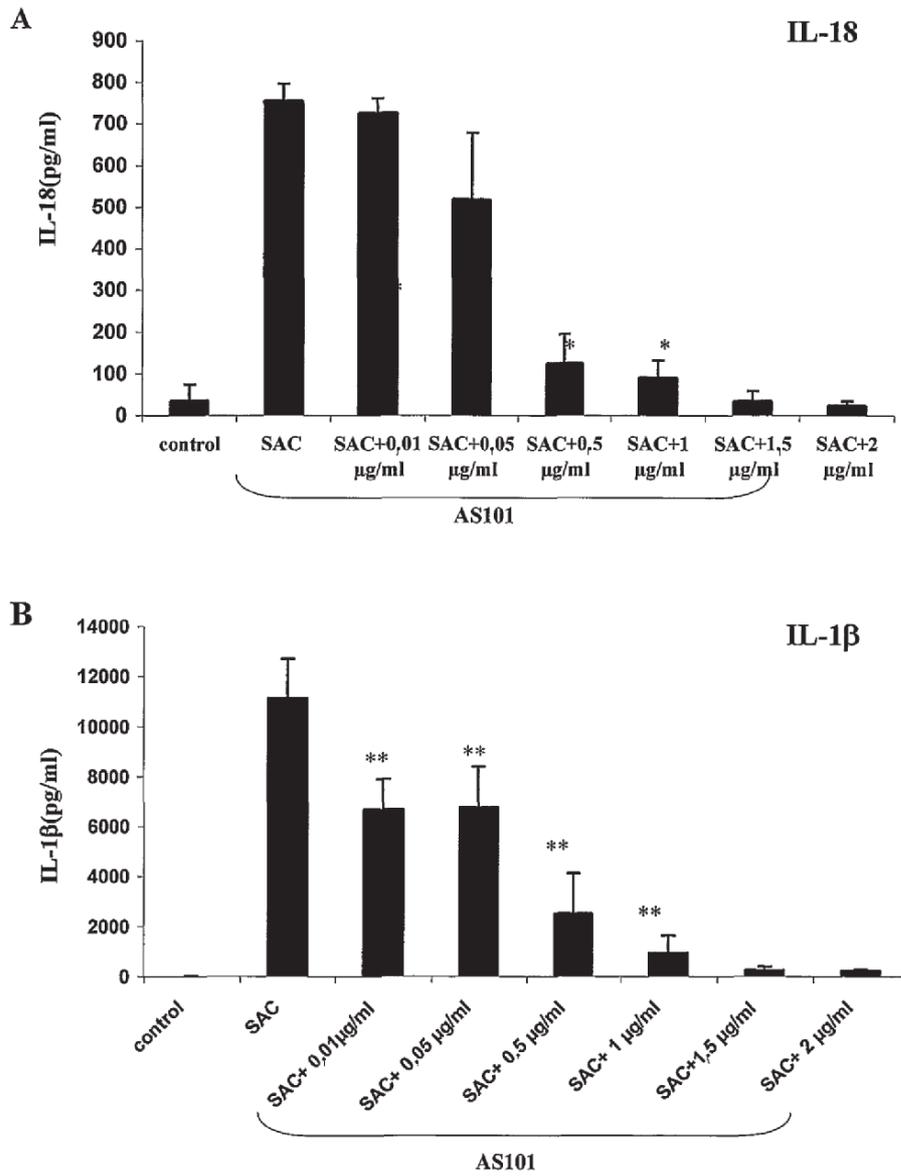


Fig. 3

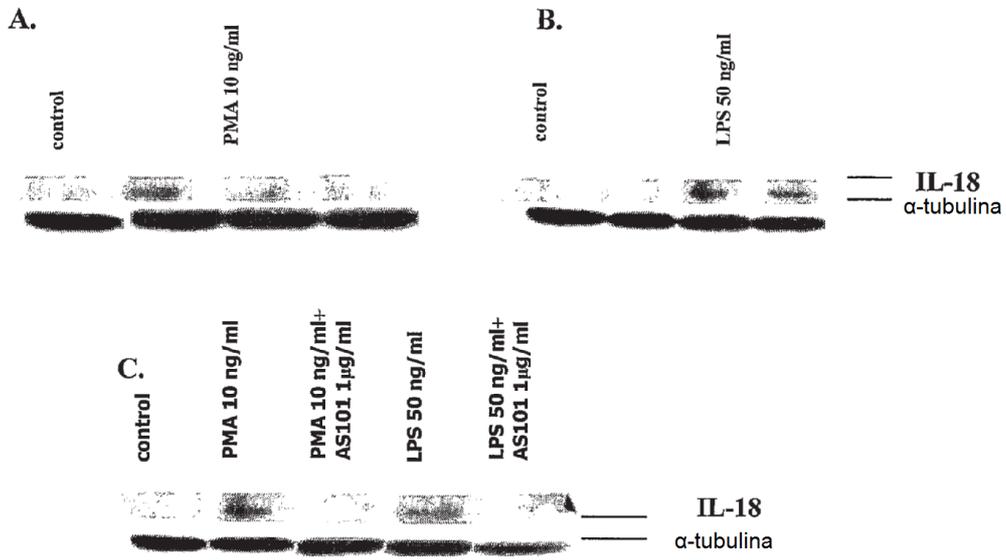


Fig. 4A

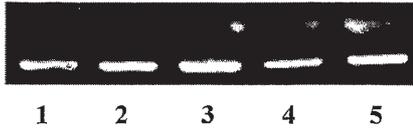


Fig. 4B



Fig. 5

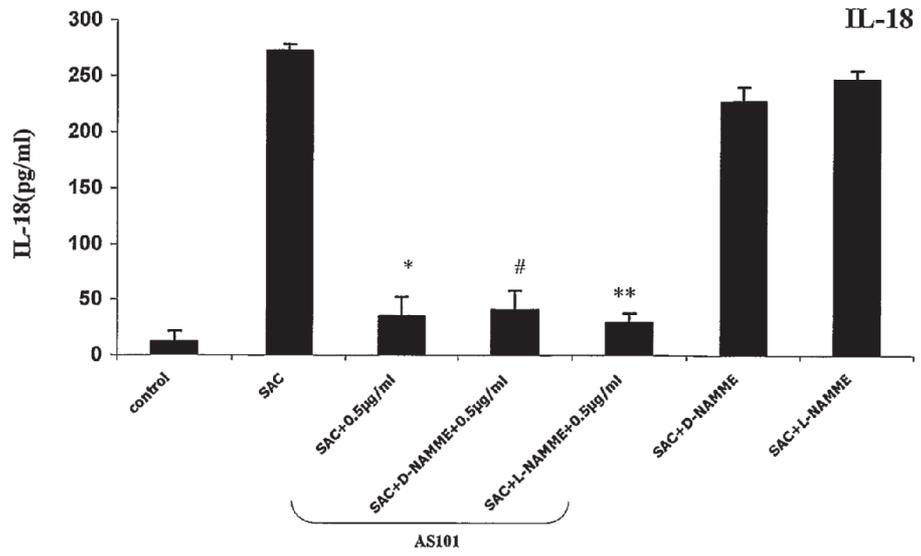


Fig. 6

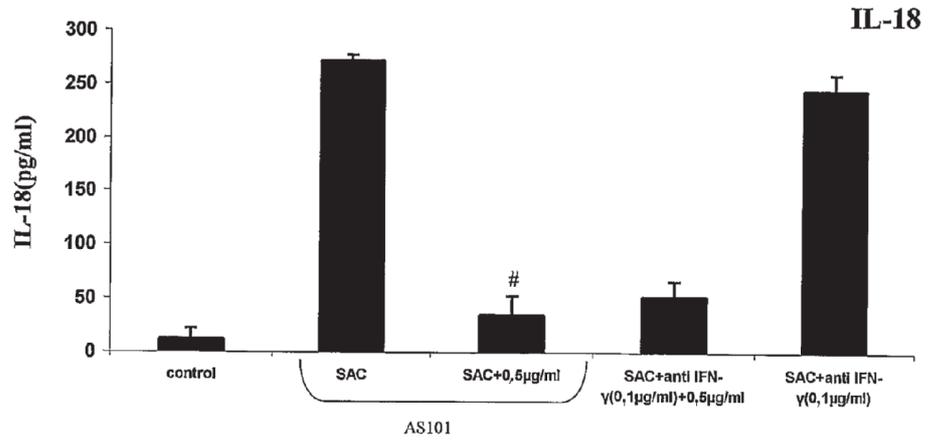


Fig. 7a

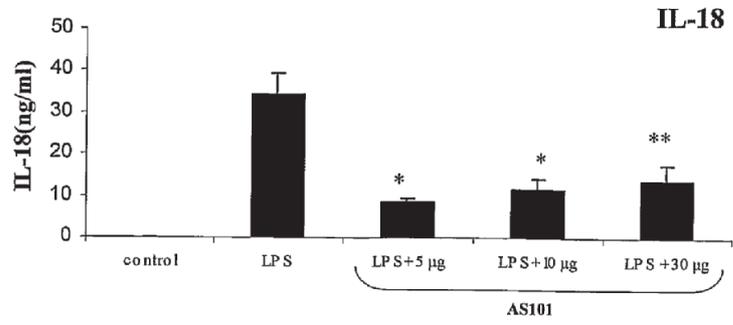


Fig. 7b

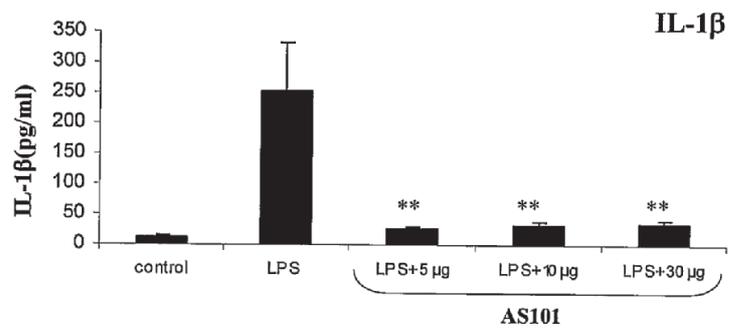


Fig. 8.

