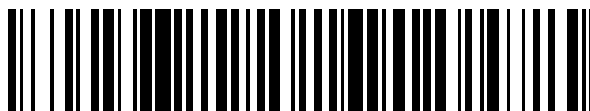


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 752 021**

51 Int. Cl.:

A61K 9/16 (2006.01)

A61K 31/635 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61K 47/32 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **31.01.2014** **PCT/US2014/014290**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.08.2014** **WO14121137**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **31.01.2014** **E 14712798 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2019** **EP 2950797**

54 Título: **Composiciones y métodos para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y otras enfermedades**

30 Prioridad:

01.02.2013 US 201361759933 P

13.03.2013 US 201361780340 P

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

02.04.2020

73 Titular/es:

GLIALOGIX, INC. (100.0%)

150 Tioga Lane
Greenbrae, CA 94904, US

72 Inventor/es:

REEDER, THADDEUS, CROMWELL;

MOORE, MARK, WADE;

LORENZ, DOUGLAS, ALAN y

LYON, DAVID, KEITH

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 752 021 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

Composiciones y métodos para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y otras enfermedades

- 5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional de los Estados Unidos n.º 61/759.933 presentada el 1 de febrero de 2013, y de la solicitud provisional de los Estados Unidos n.º 61/780.340 presentada el 13 de marzo de 2013.

Campo de la invención

- 10 En una realización, la presente divulgación se refiere a métodos para tratar enfermedades y trastornos con sulfasalazina y a formulaciones farmacéuticas de sulfasalazina donde la biodisponibilidad de la sulfasalazina está aumentada. En otra realización, la presente divulgación también proporciona regímenes de tratamiento para tratar enfermedades o trastornos neurodegenerativos, tales como P-MS y ELA con composiciones que comprendan sulfasalazina.

Antecedentes de la invención

- 20 Las enfermedades neurodegenerativas son colectivamente una causa principal de muerte e incapacidad. Los ejemplos de enfermedades neurodegenerativas incluyen esclerosis múltiple progresiva, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, epilepsia, dolor neuropático, enfermedad de Huntington y la lesión cerebral traumática. aunque la causa final y los antecedentes naturales de las enfermedades neurodegenerativas individuales difieren, se producen procesos patológicos comunes en la mayoría, si no en todas, las enfermedades neurodegenerativas. Estos procesos patológicos comunes incluyen altos niveles de células gliales activadas ("neuroinflamación"), señalización del glutamato desregulada y daños en los axones y neuronas.

- 30 La esclerosis múltiple progresiva (P-MS) es una enfermedad neurodegenerativa devastadora que afecta a aproximadamente 120.000 personas en Estados Unidos y a 350.000 personas en el mundo desarrollado. Los pacientes de P-MS aumentan progresivamente su discapacidad, incluidos cambios en la sensación (hipoestesia), debilidad muscular, espasmos musculares anómalos, o la dificultad de movimiento; dificultades con la coordinación y el equilibrio; problemas en el habla (disartria) o dificultad para deglutir (disfagia), problemas visuales (nistagmus, neuritis óptica, fosfenos o diplopia), fatiga y síndromes de dolor agudo o crónico, dificultades en la vejiga y en el intestino, deterioro cognitivo, o sintomatología emocional (principalmente depresión mayor). Actualmente el único fármaco aprobado para el tratamiento de P-MS en Estados Unidos es mitoxantrona (Novantrone), un fármaco citotóxico que también se ha utilizado para tratar cánceres. Mitoxantrona tiene un perfil de efectos adversos graves, y tiene un límite de exposición durante la vida. El tratamiento de la P-MS sigue siendo una importante necesidad médica no satisfecha.

- 40 Existen tres subtipos principales de la P-MS reconocidos por la National Multiple Sclerosis Society (EE.UU.): esclerosis múltiple primaria progresiva (PP-MS), esclerosis múltiple secundaria progresiva (SP-MS) y esclerosis múltiple progresiva con recaídas (PR-MS). Aproximadamente el 85 % de pacientes con esclerosis múltiple presenta esclerosis múltiple con remisión y recaídas (RR-MS), que se caracteriza por episodios de déficit neurológico aguda (recaídas), seguido de recuperación parcial o completa de los déficits. Después de un tiempo medio hasta la conversión de aproximadamente 19 años, aproximadamente el 70% de los pacientes con RR-MS desarrollan un declive neurológico progresivo, reconocido clínicamente como SP-MS. Aproximadamente el 10 % de pacientes con esclerosis múltiple presenta PP-MS, que se caracteriza por un declive neurológico progresivo con pocos o ningún episodio anterior de déficits neurológicos (recaídas), mientras que el 5 % presenta PR-MS, que se caracteriza por un constante empeoramiento de la enfermedad desde el principio, pero que también tiene crisis agudas marcadas (recaídas), con o sin recuperación, por ejemplo Compton et al, *Lancet* 372:1502-1517 (2008); Trapp et al, *Annu. Rev. Neurosci.* 31:247-269 (2008). Por tanto, PP-MS, SP-MS y PR-MS se agruparon conjuntamente como P-MS, ya que comparten muchas similitudes, incluida su historial natural, manifestaciones clínicas y patología, por ejemplo Kremenchutsky et al, *Brain* 129:584-594 (2006); Lassmann et al, *Nat. Rev. Neurology* 8:647-656 (2012); Stys et al, *Nat. Rev. Neuroscience* 13:507-514 (2012).

- 55 Hasta ahora, los fármacos que son eficaces para el RR-MS no han demostrado eficacia en P-MS, por ejemplo Fox et al, *Multiple Sclerosis Journal* 18:1534-1540 (2012). Se cree que esto se debe a que los fármacos actuales contra la RR-MS se dirigen principalmente al sistema inmunitario periférico (linfocitos B y T) mientras que, en su lugar, la P-MS está activada por las células inflamatorias residentes del SNC, incluida la microglía y los astrocitos, por ejemplo Fitzner et al, *Curr. Neuropharmacology* 8:305-315 (2008); Weiner, J. *Neurology* 255, Supl. 1:3-11 (2008); Lassman *Neurology* 8:647-656 (2012). La evidencia reciente sugiere que la eficacia de la mitoxantrona en P-MS se puede deber a la activación de astrocitos, vinculando de esta forma la antineuroinflamación con la eficacia en P-MS, por ejemplo Burns et al, *Brain Res.* 1473: 236-241 (2012).

- 65 Además de la neuroinflamación del SNC residente, P-MS también va acompañada de la pérdida de axones y finalmente, la muerte de las células neuronales. Los mecanismos que activan el daño axonal y neuronal no se entienden completamente, aunque la excitotoxicidad del glutamato es uno de los principales sospechosos de la P-MS

humana, por ejemplo Frigo, Curr. Medicin. Chem. 19:1295-1299 (2012). En particular, los oligodendrocitos son especialmente sensibles a los niveles elevados de glutamato, por ejemplo Matute, J. Anatomy 219:53-64 (2011). Un subconjunto de pacientes con EM han demostrado tener niveles elevados de glutamato extracelular en el líquido cefalorraquídeo, por ejemplo Sarchielli et al, Arch. Neurol. 60:1082-1088 (2003) y los pacientes de P-MS tienen una mayor incidencia de convulsiones y dolor neuropático; ambas dolencias pueden derivarse de un exceso de la señalización con glutamato y se tratan clínicamente con antiglutamatérgicos, por ejemplo Eriksson et al, Mult. Scler. 8:495-499 (2002); Svendsen et al, Pain 114: 473-481 (2004).

Otro trastorno neurodegenerativo que se cree que implica una excesiva señalización glutamatérgica es la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), que afecta a aproximadamente 100.000 pacientes en el mundo desarrollado. Los pacientes de ELA pierden progresivamente el funcionamiento de las neuronas motoras, produciendo atrofia muscular, parálisis y muerte. La duración de la vida después del diagnóstico es de solamente 3-5 años. Riluzole (Rilutek) es el único tratamiento conocido que se ha descubierto que mejora la supervivencia en pacientes de ELA; sin embargo, el tratamiento es eficaz solamente en una modesta medida por alargar el tiempo de supervivencia solamente algunos meses. Así, tratamiento de la ELA sigue siendo una importante necesidad médica no satisfecha.

En el nivel molecular, la ELA se caracteriza por una excesiva señalización glutamatérgica que produce neuroexcitotoxicidad y muerte de las neuronas motoras; véase, por ejemplo Bogaert et al, CNS Neurol. Disord. Drug Targets 9:297-304 (2010). Los tejidos afectados de la médula espinal también tienen elevados niveles de microglía activada y de astrocitos activados, que se reconoce colectivamente como neuroinflamación; véase, por ejemplo Philips et al, Lancet Neurol. 10:253-263 (2011) y se ha comprobado que las células inflamatorias activan la progresión de la enfermedad en modelos de la ELA en animales; véase, por ejemplo Iliava et al, J. Cell Biol. 187: 761-772 (2009). La ruta del glutamato se ha validado clínicamente en la ELA, ya que Riluzol inhibe múltiples actividades de glutamato, incluyendo la actividad del receptor de glutamato AMPA; véase, por ejemplo, Lin et al, Pharmacology 85:54-62 (2010).

Aproximadamente un 10 % de casos de ELA son familiares, aunque se cree que el resto de los casos son esporádicos, sin causa genética evidente hasta ahora. Entre los casos familiares, aproximadamente el 20 % son debidos a mutaciones en el gen SOD1. Los ratones y ratas genéticamente alterados para contener el gen humano mutante SOD1 desarrollan una enfermedad de las neuronas motoras que fenotípicamente se asemeja a la ELA humana. Debido a esto, la eficacia de la mayoría de las posibles terapias contra la ELA se prueban en un modelo de ratón o rata SOD1.

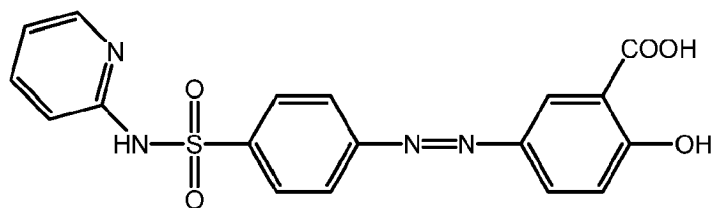
Se cree que la excesiva señalización glutamatérgica tiene un papel causal en enfermedades neurodegenerativas además de la EMP y ELA. Por ejemplo, el dolor neuropático es una enfermedad crónica producida por una lesión o enfermedad que afecta al sistema somatosensorial. El dolor neuropático está asociado con la hiperexcitabilidad neuronal, una consecuencia habitual de la excesiva señalización del glutamato, véase, por ejemplo Baron et al, Lancet Neurology 9: 807-819 (2010). El dolor neuropático puede manifestar sensaciones anómalas denominadas disestesia y dolor producido por estímulos normalmente no dolorosos (alodinia). El dolor neuropático puede tener componentes continuos y/o episódicos (paroxísticos). Lo último es parecido a un choque eléctrico. Las características comunes incluyen sensaciones de ardor o frialdad, "pinchazos y agujas", entumecimiento y picazón. El dolor neuropático se trata clínicamente con compuestos que poseen actividad antiglutamatérgica (por ejemplo, Topamax, Pregabalina). Es importante destacar que la sulfasalazina ha mostrado anteriormente tener eficacia en modelos de neuropatía diabética (por ejemplo, Berti-Mattera et al, Diabetes 57: 2801-2808 (2008); patente de Estados Unidos n.º 7.964.585) y en dolor óseo producido por cáncer (por ejemplo, Ungard et al, Pain 155: 28-36 (2014)), y en la actualidad está siendo evaluado en ensayos clínicos de neuropatía diabética dolorosa (véase Massachusetts General Hospital, Identificador de ensayos clínicos NCT01667029).

Otras enfermedades neurodegenerativas donde se utilizan compuestos con actividad antiglutamatérgica incluyen la enfermedad de Parkinson (Amantadina y Budipina), enfermedad de Alzheimer (Memantine), y epilepsia (Carbamazepina, Lamictal, y Keppra). Los antiglutamatérgicos se están investigando para el tratamiento de la lesión cerebral traumática, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, y accidente cerebrovascular isquémico. En muchos casos, estas enfermedades neurológicas también van acompañadas de elevados niveles de neuroinflamación. Otras enfermedades neurológicas que se han vinculadas al exceso de señalización de glutamato y neuroinflamación incluyen el síndrome de Rett, demencia frontotemporal, demencia asociada a VIH, esclerosis tuberosa y enfermedad de Alexander.

El sistema x_c^- del transportador de intercambio glutamato-cisteína (en el presente documento, "sistema x_c^- ") es el único transportador de glutamato que normalmente funciona para liberar glutamato dentro del espacio extracelular. La cantidad de glutamato liberada por el sistema x_c^- es suficiente para estimular múltiples receptores ionotrópicos y metabotrópicos del glutamato *in vivo*. Los antiglutamatérgicos actuales se dirigen tanto a la liberación vesicular del glutamato o a los receptores de glutamato individuales que se encuentran después de la liberación de glutamato (por ejemplo, riluzol contra el receptor AMPA). **Por el contrario**, el sistema x_c^- es responsable de la liberación no vesicular de glutamato y se encuentra antes de los receptores de glutamato individuales. La proteína xCT (SLC7A11) es el único componente catalítico identificado actualmente del sistema x_c^- .

Sulfasalazina (también denominada como ácido 2-hidroxi-5-[(E)-2-{4-[(piridin-2-il) sulfamoil]fenil}diazene-1-il]benzoico,

ácido 5-([p(2-piridilsulfamoil) fenil]azo) salicílico o salicilazosulfapiridina) es un conjugado de 5-aminosalicilato y sulfapiridina, y se prescribe ampliamente para la enfermedad inflamatoria del intestino, artritis reumatoide y espondilitis anquilosante. La sulfasalazina se degrada mediante las bacterias intestinales a sus metabolitos, 5-aminosalicilato y sulfapiridina. El mecanismo de acción en la enfermedad inflamatoria del intestino y artritis reumatoide es desconocido, aunque la acción en el colon puede estar mediada por un metabolito, 5-aminosalicilato. También se ha comprobado que la sulfasalazina es un inhibidor del sistema x_c^- .



Sulfasalazina

Las formulaciones de sulfasalazina actualmente comercializadas en Estados Unidos (por ejemplo, Azulfidine®) tienen una escasa biodisponibilidad, y solo aproximadamente un 15% del compuesto llega a la circulación después de la dosificación oral (véase, por ejemplo, etiqueta de los comprimidos Azulfidine®sulfasalazina, USP). Un problema principal de la toxicidad es la exposición del tracto gastrointestinal a la sulfasalazina, donde produce náuseas, diarrea y calambres de una forma dependiente de la dosis, véase por ejemplo Weaver, J. Clin. Rheumatol. 5: 193-200 (1999). Un problema de toxicidad adicional es la sulfapiridina, uno de los metabolitos de la sulfasalazina. La sulfapiridina es altamente (>70 %) biodisponible y se cree que se produce por bacterias intestinales, véase, por ejemplo, Peppercorn, M., J. Clin. Pharmacol. 27: 260-265 (1987); Watkinson, G., Drugs 32: Supl 1:1-11 (1986).

Sumario de la invención

El alcance de la presente invención se define por las reivindicaciones adjuntas.

La presente solicitud describe métodos dirigidos al sistema x_c^- como estrategia terapéutica para enfermedades que implican una excesiva señalización glutamatérgica. La presente solicitud describe la administración de un inhibidor del sistema x_c^- , tal como sulfasalazina, para tratar enfermedades neurodegenerativas que implican una señalización glutamatérgica excesiva, tales como P-MS y ELA. Sin pretender imponer ninguna teoría afirmada en el presente documento, la hipótesis de trabajo es que el sistema x_c^- , al liberar cantidades excesivas de glutamato, produce daño neuronal, activando de esta forma las células neuroinflamatorias. Esto a su vez eleva los niveles de sistema x_c^- , causando un bucle de retroalimentación positiva que daña y finalmente destruye axones y neuronas, incluidas las neuronas motoras. La inhibición del sistema x_c^- con un inhibidor tal como sulfasalazina puede interrumpir este bucle de retroalimentación y puede reducir el daño de axones y neuronas, incluidas las neuronas motoras.

Por lo tanto, la presente solicitud describe métodos de tratamiento de diferentes enfermedades utilizando inhibidores del sistema x_c^- , incluidos métodos que utilizan regímenes de dosificación mejorados. Además, la presente solicitud describe formulaciones de un inhibidor del sistema x_c^- , sulfasalazina, donde dichas formulaciones aumentan la biodisponibilidad de la sulfasalazina administrada por vía oral. Dichas formulaciones se pueden utilizar en el tratamiento de enfermedades y trastornos neurodegenerativos, así como en otras enfermedades y trastornos, incluidas artritis reumatoide y espondilitis anquilosante (enfermedades para las que sulfasalazina está actualmente autorizada en algunos mercados). La invención proporciona una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, y una composición farmacéutica para su uso en un método de tratamiento de un paciente que tiene una enfermedad o un trastorno neurodegenerativo de acuerdo con la reivindicación 5. Se definen rasgos preferidos en las reivindicaciones dependientes.

Los experimentos descritos en el presente documento que utilizan un modelo de la neurodegeneración en ratones demuestran que el tratamiento con sulfasalazina reduce significativamente los niveles de células neuroinflamatorias en la médula espinal (véase el Ejemplo 3), incluyendo tanto la microglía activada como los astrocitos activados. Además, los experimentos descritos en el presente documento que utilizan un modelo de ELA en ratones demuestran que la administración de sulfasalazina aumenta la supervivencia absoluta y la supervivencia después del inicio de la enfermedad neurológica definitiva en el modelo de ELA en ratones SOD1 (véase el Ejemplo 1). Por lo tanto, en diversas realizaciones, en el presente documento se divulgan métodos para tratar P-MS, ELA, y otras enfermedades neurodegenerativas mediante la administración al paciente de una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable. También se divulgan en el presente documento métodos para tratar otras enfermedades neurodegenerativas que implican una excesiva señalización glutamatérgica que comprenden administrar al paciente que tiene dicha enfermedad neurodegenerativa una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la enfermedad neurodegenerativa se selecciona entre enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, dolor neuropático, lesión cerebral traumática, enfermedad de Huntington, ictus isquémico, síndrome de Rett, demencia frontotemporal, demencia asociada a VIH, esclerosis

tuberosa y enfermedad de Alexander.

Aumento de la biodisponibilidad de sulfasalazina

- 5 Un desafío del tratamiento de la P-MS, ELA y otras enfermedades con composiciones farmacéuticas que comprenden sulfasalazina es la baja biodisponibilidad oral de las formulaciones convencionales de sulfasalazina. Por ejemplo, solamente el 15% de la sulfasalazina en una dosis administrada por vía oral de Azulfidina se absorbe en el torrente sanguíneo (véase Azulfidine Sulfasalazina Tablets Label, LAB-0241-3.0, revisado en octubre de 2009). Puesto que el nivel de sulfasalazina en los sitios de acción pertinentes para enfermedades neurodegenerativas (tales como la médula
- 10 espinal) es proporcional a la cantidad de sulfasalazina en plasma (véase el Ejemplo 4), la baja biodisponibilidad de la formulación oral de sulfasalazina limita la cantidad de sulfasalazina que alcanza dichos sitios de acción. Por lo tanto, el uso de una formulación convencional de sulfasalazina para tratar enfermedades neurodegenerativas requeriría la administración de dosis orales de sulfasalazina altas. Esto expondría a los pacientes a elevados niveles de sulfasalazina en el tracto gastrointestinal y generaría elevados niveles de sulfasalazina en el plasma, aumentando por
- 15 tanto la toxicidad. Uno de los objetivos de la presente invención es resolver estos problemas mejorando la biodisponibilidad oral de sulfasalazina para el tratamiento de P-MS, ELA y otras enfermedades, incluidas enfermedades no neurodegenerativas. El aumento de dicha biodisponibilidad permitiría que los regímenes de tratamiento de sulfasalazina fueran menores, con el beneficio adicional de limitar la exposición gastrointestinal a la sulfasalazina y la exposición sistémica a la sulfapiridina. Se predice que las formulaciones proporcionadas en el
- 20 presente documento aumentan el índice terapéutico de la sulfasalazina para el tratamiento de diferentes enfermedades.

Se divulgan en el presente documento diversos métodos para tratar diversas enfermedades y trastornos usando las composiciones descritas en el presente documento en la que se ha aumentado la solubilidad y/o biodisponibilidad de la sulfasalazina. Dichos métodos se describen a continuación.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar una enfermedad o trastorno en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que es al menos un 25 %, al menos un 50 %, al menos un 100 %, al menos un 150 %, al menos un 200 %, al menos un 250 % o al menos un 300 % mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina según el método del Ejemplo 10. Se divulgan en el

30 presente documento métodos para tratar una enfermedad o trastorno en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que es de aproximadamente un 25 %, aproximadamente un 50 %, aproximadamente un 100 %, aproximadamente un 150 %, aproximadamente un 200 %, aproximadamente un 250 % o aproximadamente un 300 % mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina según el método del Ejemplo 10. También se divulgan en el presente documento métodos para tratar una enfermedad o trastorno en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición

35 farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 25 % y aproximadamente un 500 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 75 % y aproximadamente un 300 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En algunos otros de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 100 % y aproximadamente un 200 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En algunos de los métodos descritos en este párrafo, la enfermedad o trastorno es una enfermedad o trastorno neurodegenerativo tal como P-MS o ELA. En algunos de los métodos descritos en este párrafo, la enfermedad o trastorno es diferente de una enfermedad o trastorno neurodegenerativo. En algunos de estos métodos, la enfermedad o trastorno es artritis reumatoide o espondilitis anquilosante. En algunos métodos descritos en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de

dispersión seca en pulverización.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar la P-MS en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que es al menos un 25 %, al menos un 50 %, al menos un 100 %, al menos un 150 %, al menos un 200 %, al menos un 250 % o al menos un 300 % mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina según el método del Ejemplo 10. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar la P-MS en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que es de aproximadamente un 25 %, aproximadamente un 50 %, aproximadamente un 100 %, aproximadamente un 150 %, aproximadamente un 200 %, aproximadamente un 250 % o aproximadamente un 300 % mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina según el método del Ejemplo 10. También se divulgan en el presente documento métodos para tratar la P-MS en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 25 % y aproximadamente un 500 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 75 % y aproximadamente un 300 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 100 % y aproximadamente un 200 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En algunos métodos descritos en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar la ELA en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que es al menos un 25 %, al menos un 50 %, al menos un 100 %, al menos un 150 %, al menos un 200 %, al menos un 250 % o al menos un 300 % mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina según el método del Ejemplo 10. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar la ELA en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que es de aproximadamente un 25 %, aproximadamente un 50 %, aproximadamente un 100 %, aproximadamente un 150 %, aproximadamente un 200 %, aproximadamente un 250 % o aproximadamente un 300 % mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina según el método del Ejemplo 10. También se divulgan en el presente documento métodos para tratar la ELA en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 25 % y aproximadamente un 500 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está

comprendida entre aproximadamente un 75 % y aproximadamente un 300 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una rata tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una rata da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 100 % y aproximadamente un 200 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una rata tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En algunos métodos descritos en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud.

En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar el dolor neuropático en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una rata da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que es al menos un 25 %, al menos un 50 %, al menos un 100 %, al menos un 150 %, al menos un 200 %, al menos un 250 % o al menos un 300 % mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una rata tal como se determina según el método del Ejemplo 10. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar el dolor neuropático en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una rata da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que es de aproximadamente un 25 %, aproximadamente un 50 %, aproximadamente un 100 %, aproximadamente un 150 %, aproximadamente un 200 %, aproximadamente un 250 % o aproximadamente un 300 % mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una rata tal como se determina según el método del Ejemplo 10. También se divulgan en el presente documento métodos para tratar el dolor neuropático en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una rata da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 25 % y aproximadamente un 500 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una rata tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una rata da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 75 % y aproximadamente un 300 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una rata tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una rata da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 100 % y aproximadamente un 200 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una rata tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En algunos de los métodos de este párrafo, el dolor neuropático es resultado de la neuropatía diabética dolorosa. En determinados métodos, el dolor neuropático se manifiesta como disestesia. En determinados métodos, el dolor neuropático se manifiesta como alodinia. En algunos métodos descritos en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización.

Formulaciones de la invención

La presente invención proporciona varias composiciones farmacéuticas que comprenden sulfasalazina que se han formulado para aumentar la biodisponibilidad de la sulfasalazina. Una forma de aumentar la biodisponibilidad de un fármaco poco soluble administrado por vía oral tal como sulfasalazina es aumentar la solubilidad del fármaco. La invención proporciona varias reformulaciones de sulfasalazina que aumentan la solubilidad de la sulfasalazina (para ejemplos no limitativos, véase el Ejemplo 6 del presente documento).

En algunas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica se ha formulado de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es al menos de 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. Para los fines de la presente solicitud, la "solubilidad *in vitro*" de la sulfasalazina se considerará como la $C_{\text{máx}}$ IB a 90 minutos como se muestra en el Ejemplo 9 y la Tabla 9 de la presente solicitud. En otras realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la

aproximadamente 8,8 veces y aproximadamente 44 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. La sulfasalazina está en una forma esencialmente amorfa.

- 5 En algunas realizaciones, se proporciona una forma farmacéutica oral para la sulfasalazina que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la forma farmacéutica oral se ha formulado de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 es al menos 2 veces mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 es al menos 5 veces o al menos 8,8 veces mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunas realizaciones, se proporciona una forma farmacéutica oral para la sulfasalazina que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la forma farmacéutica oral se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 es de aproximadamente 2 veces, de aproximadamente 5 veces, o de aproximadamente 8,8 veces mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunas realizaciones, se proporciona una forma farmacéutica oral para la sulfasalazina que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la forma farmacéutica oral se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 2 veces y aproximadamente 44 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunas de dichas realizaciones, la forma farmacéutica oral se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 2 veces y aproximadamente 8,8 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunas otras realizaciones, la forma farmacéutica oral se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 8,8 veces y aproximadamente 44 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. La sulfasalazina está en una forma esencialmente amorfa.
- 30 En algunas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica se ha formulado de forma que la administración oral de dicha composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que es al menos un 25 %, al menos un 50 %, al menos un 100 %, al menos un 150 %, al menos un 200 %, al menos un 250 %, o al menos un 300 % mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina en el Ejemplo 10. En algunas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica se ha formulado de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que es aproximadamente un 25 %, aproximadamente un 50 %, aproximadamente un 100 %, aproximadamente un 150 %, aproximadamente un 200 %, aproximadamente un 250 % o aproximadamente un 300 % mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En algunas realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica se ha formulado de forma que la administración oral de dicha composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 25 % y aproximadamente un 500 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina en el Ejemplo 10. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica se ha formulado de forma que la administración oral de dicha composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 75 % y aproximadamente un 300 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina en el Ejemplo 10. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica se ha formulado de forma que la administración oral de dicha composición farmacéutica formulada a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 300 % y aproximadamente un 500 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una tasa tal como se determina en el Ejemplo 10. La sulfasalazina está en una forma esencialmente amorfa.

- 65 En algunas realizaciones, se proporciona una forma farmacéutica oral para la sulfasalazina que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la forma farmacéutica oral se ha formulado de forma que la administración oral de dicha forma farmacéutica oral a una tasa da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que es al menos un 25 %, al menos un 50 %, al menos un 100 %, al menos un 150 %, al menos un 200 %, al menos un 250 %, o al

menos un 300 % mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una rata tal como se determina en el Ejemplo 10. En algunas realizaciones, se proporciona una forma farmacéutica oral para la sulfasalazina que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la forma farmacéutica oral se ha formulado de forma que la administración oral de dicha forma farmacéutica oral a una rata da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración está comprendida entre aproximadamente un 25 % y aproximadamente un 500 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una rata tal como se determina en el Ejemplo 10. En algunas de dichas realizaciones, la forma farmacéutica oral se ha formulado de forma que la administración oral de dicha forma farmacéutica oral a una rata da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración está comprendida entre aproximadamente un 75 % y aproximadamente un 300 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una rata tal como se determina en el Ejemplo 10. En algunas de dichas realizaciones, la forma farmacéutica oral se ha formulado de forma que la administración oral de dicha forma farmacéutica oral a una rata da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración está comprendida entre aproximadamente un 300 % y aproximadamente un 500 % mayor, inclusive, que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una rata tal como se determina en el Ejemplo 10. La sulfasalazina está en una forma esencialmente amorfa.

En las composiciones y métodos descritos en las reivindicaciones, la composición comprende un polímero farmacéuticamente aceptable. Tal como se divulga en el presente documento, el polímero farmacéuticamente aceptable se puede seleccionar entre polivinilpirrolidona (PVP, incluida PVP VA64, homopolímeros y copolímeros de polivinilpirrolidona y homopolímeros o copolímeros de N-vinilpirrolidona); crospovidona; copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno (también conocidos como poloxámeros); derivados de celulosa (incluyendo acetato succinato de hidroxipropil metil celulosa (HPMCAS), ftalato de hidroxipropil metil celulosa (HPMCP), hidroxipropil metilcelulosa (HPMC), acetato ftalato de celulosa (CAP), acetato trimelitato de celulosa (CAT), acetatoftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetatotrimelitato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetatosuccinato de celulosa, acetatosuccinato de metilcelulosa, carboximetil etil celulosa (CMEC), hidroxipropilmetilcelulosa, acetato de hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa y otros); dextrano; ciclodextrinas; homopolímeros y copolímeros de vinil lactama, y mezclas de los mismos; gelatinas; ftalato de hipromelosa; azúcares; alcoholes polihídricos; polietilenglicol (PEG); óxidos de polietileno; derivados de polioxietileno; poli(alcohol vinílico); derivados de propilenglicol y similares; SLS; Tween; EUDRAGIT (un copolímero de ácido metacrílico y metacrilato de metilo); y combinaciones de los mismos. El polímero puede ser soluble en agua o insoluble en agua. La relación entre la sulfasalazina y el polímero en la composición es de 5:95 p/p a 50:50 p/p en las reivindicaciones 1 y 5, y en dichas reivindicaciones, el polímero es PVP VA64.

Se proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden sulfasalazina amorfa o esencialmente amorfa y un polímero farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas están en forma de una dispersión sólida. Tal como se divulga en el presente documento, el polímero farmacéuticamente aceptable se puede seleccionar entre polivinilpirrolidona (PVP, incluida PVP VA64, homopolímeros y copolímeros de polivinilpirrolidona y homopolímeros o copolímeros de N-vinilpirrolidona); crospovidona; copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno (también conocidos como poloxámeros); derivados de celulosa (incluyendo acetato succinato de hidroxipropil metil celulosa (HPMCAS), ftalato de hidroxipropil metil celulosa (HPMCP), hidroxipropil metilcelulosa (HPMC), acetato ftalato de celulosa (CAP), acetato trimelitato de celulosa (CAT), acetatoftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetatotrimelitato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetatosuccinato de celulosa, acetatosuccinato de metilcelulosa, carboximetil etil celulosa (CMEC), hidroxipropilmetilcelulosa, acetato de hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa y otros); dextrano; ciclodextrinas; homopolímeros y copolímeros de vinil lactama, y mezclas de los mismos; gelatinas; ftalato de hipromelosa; azúcares; alcoholes polihídricos; polietilenglicol (PEG); óxidos de polietileno; derivados de polioxietileno; poli(alcohol vinílico); derivados de propilenglicol y similares; SLS; Tween; EUDRAGIT (un copolímero de ácido metacrílico y metacrilato de metilo); y combinaciones de los mismos. El polímero puede ser soluble en agua o insoluble en agua. La relación entre la sulfasalazina y el polímero en la composición es de 5:95 p/p a 50:50 p/p en las reivindicaciones 1 y 5, y en dichas reivindicaciones, el polímero es PVP VA64.

La presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden sulfasalazina y PVP VA64. En ciertas realizaciones, la relación de sulfasalazina a PVP VA64 en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. En algunas de dichas realizaciones, la relación entre sulfasalazina y PVP VA64 es de aproximadamente 25:75 p/p. La composición farmacéutica comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden sulfasalazina y PVP VA64, en las que la relación de sulfasalazina a PVP VA64 en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p; y en las que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma amorfa. En algunas de dichas realizaciones, la relación entre sulfasalazina y PVP VA64 es de aproximadamente 25:75 p/p. La composición farmacéutica comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable. En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden sulfasalazina y PVP VA64, en las que la relación de sulfasalazina a PVP VA64 en la composición es de aproximadamente 40:60 p/p a aproximadamente 60:40 p/p; y

en las que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma amorfa. En algunas de dichas realizaciones, la relación entre sulfasalazina y PVP VA64 es de aproximadamente 50:50 p/p. En ciertas realizaciones de este párrafo, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de al menos 500 µg/ml, al menos 1200 µg/ml o al menos 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En algunas realizaciones de este párrafo, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de aproximadamente 500 µg/ml, aproximadamente 1200 µg/ml o aproximadamente 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En algunas realizaciones de este párrafo, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otras realizaciones, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 7.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En algunas realizaciones de este párrafo, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 2500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En algunas realizaciones de este párrafo, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otra realización, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 5.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otras realizaciones, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 7.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9.

En otras realizaciones, se proporciona una composición en forma de dispersión seca mediante pulverización que comprende sulfasalazina y polímero PVP VA64, en las que la relación de sulfasalazina a PVP VA64 en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. En un aspecto de la realización anterior, en la que la relación entre sulfasalazina y PVP VA64 es de aproximadamente 25:75 p/p. En ciertas de las realizaciones, la composición farmacéutica comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable. En otras realizaciones, se proporciona una composición en forma de dispersión seca mediante pulverización que comprende sulfasalazina y polímero PVP VA64, en las que la relación de sulfasalazina a PVP VA64 en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p; en la que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma esencialmente amorfa. En algunas de dichas realizaciones, en la que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma amorfa. En un aspecto de la realización anterior, en la que la relación entre sulfasalazina y PVP VA64 es de aproximadamente 25:75 p/p. La composición farmacéutica comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable. En otro aspecto de lo anterior, la composición en forma de dispersión seca mediante pulverización se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de al menos 500 µg/ml, al menos 1200 µg/ml o al menos 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otro aspecto de lo anterior, la composición en forma de dispersión seca mediante pulverización se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de aproximadamente 500 µg/ml, aproximadamente 1200 µg/ml o aproximadamente 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otro aspecto de lo anterior, la composición en forma de dispersión seca mediante pulverización se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otra realización, la composición en forma de dispersión seca mediante pulverización se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 7.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otras realizaciones, la composición en forma de dispersión seca mediante pulverización se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 5.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otros aspectos de los anterior, la composición en forma de dispersión seca mediante pulverización se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 2500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 determinado como en el Ejemplo 9. En otros aspectos de lo anterior, la composición en forma de dispersión seca mediante pulverización se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9.

Las realizaciones de la divulgación proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden sulfasalazina y HPMCAS, en las que la relación de sulfasalazina a HPMCAS en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. En algunas de dichas realizaciones, la relación entre sulfasalazina y HPMCAS es de aproximadamente 25:75 p/p. En ciertas realizaciones son composiciones farmacéuticas que comprenden sulfasalazina y HPMCAS, en las que la relación de sulfasalazina a HPMCAS en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p; en la que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma amorfa. En algunas de dichas realizaciones, la relación entre sulfasalazina y HPMCAS es de aproximadamente 25:75 p/p. En ciertas realizaciones de las composiciones farmacéuticas de este párrafo, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de al menos 500 µg/ml, al menos 1200 µg/ml o al menos 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En ciertas realizaciones de las composiciones farmacéuticas de este párrafo, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de aproximadamente 500 µg/ml, aproximadamente 1200 µg/ml o aproximadamente 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En ciertas realizaciones de las composiciones farmacéuticas de este párrafo, la composición farmacéutica

se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otros aspectos de los anterior, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 2500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otro aspecto, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 5.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otro aspecto, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 7.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otros aspectos de los anterior, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9.

Las realizaciones de la divulgación proporcionan composiciones en forma de dispersión secada mediante pulverización que comprenden sulfasalazina y HPMCAS, en las que la relación de sulfasalazina a HPMCAS en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. En algunas de dichas realizaciones, la relación entre sulfasalazina y HPMCAS es de aproximadamente 25:75 p/p. En ciertas realizaciones, la divulgación proporciona composiciones en forma de dispersión secada mediante pulverización que comprenden sulfasalazina y HPMCAS, en las que la relación de sulfasalazina a HPMCAS en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p; en la que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma esencialmente amorfa. En algunas de dichas realizaciones, la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma amorfa. En algunas realizaciones, se proporciona una composición en forma de dispersión seca mediante pulverización que comprende sulfasalazina y polímero HPMCAS, en las que la relación de sulfasalazina a HPMCAS en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p; en la que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma esencialmente amorfa y la composición en forma de dispersión secada mediante pulverización se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es al menos 500 µg/ml, al menos 1200 µg/ml o al menos 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En un aspecto de la realización anterior, la relación entre sulfasalazina y HPMCAS es de aproximadamente 25:75 p/p. En algunas realizaciones, se proporciona una composición en forma de dispersión seca mediante pulverización que comprende sulfasalazina y HPMCAS, en las que la relación de sulfasalazina a HPMCAS en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p; en la que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma esencialmente amorfa y la composición en forma de dispersión secada mediante pulverización se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otro aspecto, la composición en forma de dispersión seca mediante pulverización se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 7.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En algunas de dichas realizaciones, la composición en forma de dispersión seca mediante pulverización se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 2500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otras de dichas realizaciones, la composición en forma de dispersión seca mediante pulverización se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En ciertas de las realizaciones anteriores, la relación entre sulfasalazina y HPMCAS es de aproximadamente 25:75 p/p.

En otra realización, se proporciona una composición en forma de dispersión seca mediante pulverización que comprende sulfasalazina y un polímero farmacéuticamente aceptable. En realizaciones desveladas, el polímero farmacéuticamente aceptable se puede seleccionar entre polivinilpirrolidona (PVP, incluida PVP VA64, homopolímeros y copolímeros de polivinilpirrolidona y homopolímeros o copolímeros de N-vinilpirrolidona); crospovidona; copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno (también conocidos como poloxámeros); derivados de celulosa (incluyendo acetato succinato de hidroxipropil metil celulosa (HPMCAS), ftalato de hidroxipropil metil celulosa (HPMCP), hidroxipropil metilcelulosa (HPMC), acetato ftalato de celulosa (CAP), acetato trimelitato de celulosa (CAT), acetatoftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetatotrimelitato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetatosuccinato de celulosa, acetatosuccinato de metilcelulosa, carboximetil etil celulosa (CMEC), hidroxipropilmetilcelulosa, acetato de hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxietilcelulosa y otros); dextrano; ciclodextrinas; homopolímeros y copolímeros de vinil lactama, y mezclas de los mismos; gelatinas; ftalato de hipromelosa; azúcares; alcoholes polihídricos; polietilenglicol (PEG); óxidos de polietileno; derivados de polioxietileno; poli(alcohol vinílico); derivados de propilenglicol y similares; SLS; Tween; EUDRAGIT (un copolímero de ácido metacrílico y metacrilato de metilo); y combinaciones de los mismos. El polímero puede ser soluble en agua o insoluble en agua. De acuerdo con las reivindicaciones, la relación entre la sulfasalazina y el polímero en la composición es de aproximadamente 5:95 p/p a 50:50 p/p, la sulfasalazina dispersa en el polímero está en una forma esencialmente amorfa, y el polímero es PVP VA64.

En la composición de la invención, la sulfasalazina está en una forma amorfa o una forma esencialmente amorfa. En la composición de la invención, la composición comprende PVP VA64. En algunas de dichas realizaciones, la relación entre la sulfasalazina y el PVP VA64 en la composición es de 20:80 p/p a 30:70 p/p o es de aproximadamente 25:75 p/p. En algunas otras de dichas realizaciones, la relación de sulfasalazina a PVP VA64 en la composición es de 40:60 p/p a 50:50 p/p.

Tratamiento de enfermedades y trastornos neurodegenerativos con las formulaciones de la invención

En ciertas realizaciones, las formulaciones de la presente invención se pueden utilizar en el tratamiento de enfermedades y trastornos neurodegenerativos, así como de algunas otras enfermedades y trastornos. Por ejemplo, la diversas formulaciones y composiciones que comprenden sulfasalazina descritas en la presente solicitud se pueden usar en el tratamiento de P-MS, ELA, dolor neuropático, y otras enfermedades y trastornos neurodegenerativos.

En ciertas realizaciones, la solicitud proporciona métodos para tratar la P-MS en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de al menos 500 µg/ml, al menos 1200 µg/ml o al menos 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En ciertas realizaciones, la solicitud proporciona métodos para tratar la P-MS en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es al menos de 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En ciertas realizaciones, la solicitud proporciona métodos para tratar la P-MS en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de aproximadamente 500 µg/ml, aproximadamente 1200 µg/ml o aproximadamente 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En ciertas realizaciones, la solicitud proporciona métodos para tratar la P-MS en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 2500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otra realización, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 5.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otras realizaciones, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 7.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En algunas otras de dichas realizaciones, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En ciertas realizaciones descritas en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización.

En ciertas realizaciones, se proporcionan métodos para tratar la P-MS en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 es al menos 2 veces mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 es al menos 5 veces o al menos 8,8 veces mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En ciertas realizaciones, se proporcionan métodos para tratar la P-MS en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 es de aproximadamente 2 veces, de aproximadamente 5 veces, o de aproximadamente 8,8 veces mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En ciertas realizaciones, se proporcionan métodos para tratar la P-MS en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 2 veces y aproximadamente 44 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 2 veces y aproximadamente 8,8 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunas otras realizaciones, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 8,8 veces y aproximadamente 44 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En ciertas realizaciones descritas en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunas de dichas realizaciones,

la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización.

Las realizaciones de la divulgación proporcionan métodos para tratar un paciente con P-MS que comprenden administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en las que la sulfasalazina está en una forma esencialmente amorfa. En un aspecto del método, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina desde la composición es de al menos 500 µg/ml a un pH de 5,5 cuando se mide según el método del Ejemplo 9. En otro aspecto divulgado, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es al menos 1200 µg/ml o al menos 2300 µg/ml. En ciertas realizaciones, la solicitud proporciona métodos para tratar la P-MS en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina prácticamente amorfa y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de aproximadamente 500 µg/ml, aproximadamente 1200 µg/ml o aproximadamente 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otros aspectos divulgados, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive. En otros aspectos divulgados, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 2500 µg/ml, inclusive. En otro aspecto de lo anterior, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 5.500 µg/ml, inclusive. En otro aspecto de lo anterior, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 7.500 µg/ml, inclusive. En otros aspectos divulgados, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive.

En otro aspecto del método, la composición farmacéutica comprende un polímero farmacéuticamente aceptable. En algunas de dichas realizaciones, el polímero farmacéuticamente aceptable es un polímero de pirrolidona. En otro aspecto divulgado, el polímero de pirrolidona se selecciona entre polivinilpirrolidona, vinilpirrolidona-acetato de vinilo y crospovidona. En otro aspecto más del método, el polímero de pirrolidona es PVP VA64. En otro aspecto del método anterior, la relación de sulfasalazina a PVP VA64 en la composición farmacéutica es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. En otro aspecto, la relación entre sulfasalazina y PVP VA64 es de aproximadamente 25:75 p/p. En ciertas realizaciones descritas en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización.

En ciertas realizaciones, la solicitud proporciona métodos para tratar la ELA en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de al menos 500 µg/ml, al menos 1200 µg/ml o al menos 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En ciertas realizaciones, la solicitud proporciona métodos para tratar la ELA en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es al menos de 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En ciertas realizaciones, la solicitud proporciona métodos para tratar la ELA en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de aproximadamente 500 µg/ml, aproximadamente 1200 µg/ml o aproximadamente 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En ciertas realizaciones, la solicitud proporciona métodos para tratar la ELA en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 2500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otra realización de lo anterior, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 7.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otra realización de lo anterior, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 5.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En ciertas realizaciones descritas en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar la ELA en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 es al menos 2 veces

mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 es al menos 5 veces o al menos 8,8 veces mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar la ELA en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina el Ejemplo 9 es de aproximadamente 2 veces, de aproximadamente 5 veces, o de aproximadamente 8,8 veces mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar la ELA en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 2 veces y aproximadamente 44 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 2 veces y aproximadamente 8,8 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunos otros métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 8,8 veces y aproximadamente 44 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunos métodos descritos en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con ELA que comprende administrar por vía oral a un paciente con ELA una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en las que la sulfasalazina está en una forma esencialmente amorfa. En algunos métodos divulgados, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina desde la composición es de al menos 500 µg/ml a un pH de 5,5 cuando se mide según el método del Ejemplo 9. En algunos de estos métodos, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es al menos 1200 µg/ml o al menos 2300 µg/ml. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar la ELA en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina esencialmente amorfa y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de aproximadamente 500 µg/ml, aproximadamente 1200 µg/ml o aproximadamente 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con ELA que comprende administrar por vía oral a un paciente con ELA una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina esencialmente amorfa y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive. En otro método, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 7.500 µg/ml, inclusive. En otro método de lo anterior, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 5.500 µg/ml, inclusive. En algunas de dichas realizaciones, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 2500 µg/ml, inclusive. En otras de dichas realizaciones, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive. En otro aspecto del método, la composición farmacéutica comprende un polímero farmacéuticamente aceptable. En algunas de dichas realizaciones, el polímero farmacéuticamente aceptable comprende un polímero de pirrolidona. En otro aspecto del método, el polímero de pirrolidona se selecciona entre polivinilpirrolidona, vinilpirrolidona-acetato de vinilo y crospovidona. En otro método más, el polímero de pirrolidona es PVP VA64. En otro método, la relación de sulfasalazina a PVP VA64 en la composición farmacéutica es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. La relación de sulfasalazina a PVP VA64 puede ser 25:75 p/p. En ciertas realizaciones descritas en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar el dolor neuropático en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de al menos 500 µg/ml, al menos 1200 µg/ml o al menos 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar el dolor neuropático en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de aproximadamente 500 µg/ml, aproximadamente 1200 µg/ml o aproximadamente 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar el dolor neuropático en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que

comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otro método, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 7.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otro método, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 5.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 2500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En algunos de los métodos de este párrafo, el dolor neuropático es resultado de la neuropatía diabética dolorosa. En determinados métodos, el dolor neuropático se manifiesta como disestesia. En determinados métodos, el dolor neuropático se manifiesta como alodinia. En determinados métodos, descritos en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar el dolor neuropático en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 es al menos 2 veces mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 es al menos 5 veces o al menos 8,8 veces mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar el dolor neuropático en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina el Ejemplo 9 es de aproximadamente 2 veces, de aproximadamente 5 veces, o de aproximadamente 8,8 veces mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar el dolor neuropático en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 2 veces y aproximadamente 44 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 8,8 veces y aproximadamente 44 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunos otros métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 8,8 veces y aproximadamente 44 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunos de los métodos de este párrafo, el dolor neuropático es resultado de la neuropatía diabética dolorosa. En determinados métodos, el dolor neuropático se manifiesta como disestesia. En determinados métodos, el dolor neuropático se manifiesta como alodinia. En algunos métodos descritos en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con dolor neuropático que comprende administrar por vía oral a un paciente con dolor neuropático una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en las que la sulfasalazina está en una forma esencialmente amorfa. En determinados métodos, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina desde la composición es de al menos 500 µg/ml a un pH de 5,5 cuando se mide según el método del Ejemplo 9. En determinados métodos, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es al menos 1200 µg/ml o al menos 2300 µg/ml. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar el dolor neuropático en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de aproximadamente 500 µg/ml, aproximadamente 1200 µg/ml o aproximadamente 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con dolor neuropático que comprende administrar por vía oral a un paciente con dolor neuropático una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina esencialmente amorfa y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive. En algunos de estos métodos, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y

aproximadamente 2500 µg/ml, inclusive. En otro método, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 7.500 µg/ml, inclusive. En otros de estos métodos, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive. En otro aspecto del método, la composición farmacéutica comprende un polímero farmacéuticamente aceptable. En algunas de dichas realizaciones, el polímero farmacéuticamente aceptable es un polímero de pirrolidona. En otro método divulgado, el polímero de pirrolidona se selecciona entre polivinilpirrolidona, vinilpirrolidona-acetato de vinilo y crospovidona. En otro aspecto más del método, el polímero de pirrolidona es PVP VA64. En una realización del método anterior, la relación de sulfasalazina a PVP VA64 en la composición farmacéutica es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. y en el que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma amorfa. En otro método, la relación entre sulfasalazina y PVP VA64 es de aproximadamente 25:75 p/p. En algunas de las realizaciones de este párrafo, el dolor neuropático es resultado de la neuropatía diabética dolorosa. En ciertas realizaciones, el dolor neuropático se manifiesta como disestesia. En ciertas realizaciones, el dolor neuropático se manifiesta como alodinia. En ciertas realizaciones descritas en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar una enfermedad o trastorno neurodegenerativo en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de al menos 500 µg/ml, al menos 1200 µg/ml o al menos 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar una enfermedad o trastorno neurodegenerativo en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de aproximadamente 500 µg/ml, aproximadamente 1200 µg/ml, o aproximadamente 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar una enfermedad o trastorno neurodegenerativo en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En una realización, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 7.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 2500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En otras de dichas realizaciones, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En ciertas realizaciones descritas en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización. En ciertas realizaciones de este párrafo, la enfermedad neurodegenerativa se selecciona entre enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, lesión cerebral traumática, enfermedad de Huntington, ictus isquémico, síndrome de Rett, demencia frontotemporal, demencia asociada a VIH, esclerosis tuberosa y enfermedad de Alexander.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar una enfermedad o trastorno neurodegenerativo en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 es al menos 2 veces o 5 veces mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5. En algunos de estos métodos, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 es al menos 8,8 veces mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar una enfermedad o trastorno neurodegenerativo en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 2 veces y aproximadamente 44 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 2 veces y aproximadamente 8,8 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5. En algunos otros métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 8,8 veces y aproximadamente 44 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5. En ciertas realizaciones descritas en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en

pulverización. En ciertas realizaciones de este párrafo, la enfermedad neurodegenerativa se selecciona entre enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, lesión cerebral traumática, enfermedad de Huntington, ictus isquémico, síndrome de Rett, demencia frontotemporal, demencia asociada a VIH, esclerosis tuberosa y enfermedad de Alexander.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente que tiene una enfermedad o trastorno neurodegenerativo que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la sulfasalazina está en una forma esencialmente amorfa. En un aspecto del método, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina desde la composición es de al menos 500 µg/ml a un pH de 5,5 cuando se mide según el método del Ejemplo 9. En otro aspecto del método, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina de la composición es al menos 1200 µg/ml o al menos 2300 µg/ml. En otros aspectos del método, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina de la composición está comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive. En otro aspecto, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina de la composición está comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 7.500 µg/ml, inclusive. En otros aspectos del método, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina de la composición está comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 2500 µg/ml. En otros aspectos del método, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina de la composición está comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml. En otro aspecto del método, la composición farmacéutica comprende un polímero farmacéuticamente aceptable. En algunos métodos divulgados, el polímero farmacéuticamente aceptable es un polímero de pirrolidona. En otro aspecto del método, el polímero de pirrolidona se selecciona entre polivinilpirrolidona, vinilpirrolidona-acetato de vinilo y crospovidona. En otro aspecto más del método, el polímero de pirrolidona es PVP VA64. En otro aspecto del método anterior, la relación de sulfasalazina a PVP VA64 en la composición farmacéutica puede ser de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. En otro método, la relación de sulfasalazina a PVP VA64 es de aproximadamente 25:75 p/p. En ciertos métodos de este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica está en una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización. En ciertos métodos de este párrafo, la enfermedad neurodegenerativa se selecciona entre enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, lesión cerebral traumática, enfermedad de Huntington, ictus isquémico, síndrome de Rett, demencia frontotemporal, demencia asociada a VIH, esclerosis tuberosa y enfermedad de Alexander.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con P-MS que comprende administrar por vía oral al paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y PVP VA64; en los que la relación entre sulfasalazina y PVP VA64 es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. En algunos de estos métodos, la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma esencialmente amorfa. En algunos de estos métodos, la sulfasalazina dispersa el polímero está en forma amorfa. En ciertos de los métodos de este párrafo, la relación entre sulfasalazina y PVP VA64 es de aproximadamente 25:75 p/p. En ciertos métodos de este párrafo, la composición farmacéutica comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con P-MS que comprende administrar por vía oral al paciente una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y HPMCAS, en el que la relación de sulfasalazina a HPMCAS en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. y en el que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma esencialmente amorfa. En algunos de estos métodos, la sulfasalazina dispersa el polímero está en forma amorfa. En determinados métodos, la relación entre sulfasalazina y HPMCAS es de aproximadamente 25:75 p/p. En ciertos métodos de este párrafo, la composición farmacéutica comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con ELA que comprende administrar por vía oral al paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y PVP VA64; en el que la relación de sulfasalazina a PVP VA64 es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. y en el que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma esencialmente amorfa. En algunos de estos métodos, la sulfasalazina dispersa el polímero está en forma amorfa. En determinados métodos, la relación entre sulfasalazina y PVP VA64 es de aproximadamente 25:75 p/p. En ciertos métodos de este párrafo, la composición farmacéutica comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con ELA que comprende administrar por vía oral al paciente una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y HPMCAS; en el que la relación de sulfasalazina a HPMCAS en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. y en el que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma esencialmente amorfa. En algunos de estos métodos, la sulfasalazina dispersa el polímero está en forma amorfa. En determinados métodos, la relación entre sulfasalazina y HPMCAS es de aproximadamente 25:75 p/p. En ciertos métodos de este párrafo, la composición farmacéutica comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con dolor neuropático que comprende administrar por vía oral al paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y PVP VA64; en los que la relación entre sulfasalazina y PVP VA64 es de aproximadamente

20:80 p/p a 30:70 p/p; en la que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma esencialmente amorfa. En algunos de estos métodos, la sulfasalazina dispersa el polímero está en forma amorfa. En determinados métodos, la relación entre sulfasalazina y PVP VA64 es de aproximadamente 25:75 p/p. En algunos de los métodos de este párrafo, el dolor neuropático es dolor neuropático por diabetes. En determinados métodos, el dolor neuropático se manifiesta como disestesia. En determinados métodos, el dolor neuropático se manifiesta como alodinia. En ciertos métodos de este párrafo, la composición farmacéutica comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con dolor neuropático que comprende administrar por vía oral al paciente una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y HPMCAS; en el que la relación de sulfasalazina a HPMCAS en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. y en el que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma esencialmente amorfa. En algunos de estos métodos, la sulfasalazina dispersa el polímero está en forma amorfa. En determinados métodos, la relación entre sulfasalazina y HPMCAS es de aproximadamente 25:75 p/p. En algunos de los métodos, de este párrafo, el dolor neuropático es resultado de la neuropatía diabética dolorosa. En determinados métodos, el dolor neuropático se manifiesta como disestesia. En determinados métodos, el dolor neuropático se manifiesta como alodinia. En ciertos métodos de este párrafo, la composición farmacéutica comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar una enfermedad o trastorno neurodegenerativo en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y PVP VA64; en el que la relación de sulfasalazina a PVP VA64 es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. y en el que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma esencialmente amorfa. En algunos de estos métodos, la sulfasalazina dispersa el polímero está en forma amorfa. En algunos de estos métodos, la relación entre sulfasalazina y PVP VA64 es de aproximadamente 25:75 p/p. En ciertos métodos de este párrafo, la composición farmacéutica comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable. En ciertos métodos de este párrafo, la enfermedad neurodegenerativa se selecciona entre enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, lesión cerebral traumática, enfermedad de Huntington, ictus isquémico, síndrome de Rett, demencia frontotemporal, demencia asociada a VIH, esclerosis tuberosa y enfermedad de Alexander.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar una enfermedad o trastorno neurodegenerativo en un paciente que comprende administrar oralmente al paciente composiciones farmacéuticas que comprenden sulfasalazina y HPMCAS en la que la relación de sulfasalazina a HPMCAS en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. En algunos de estos métodos, la sulfasalazina está dispersa en una forma esencialmente amorfa. En algunos de estos métodos, la sulfasalazina dispersa el polímero está en forma amorfa. En algunos de estos métodos, la relación entre sulfasalazina y HPMCAS es de aproximadamente 25:75 p/p. En ciertos métodos de este párrafo, la composición farmacéutica comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable. En ciertos métodos de este párrafo, la enfermedad neurodegenerativa se selecciona entre enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, lesión cerebral traumática, enfermedad de Huntington, ictus isquémico, síndrome de Rett, demencia frontotemporal, demencia asociada a VIH, esclerosis tuberosa y enfermedad de Alexander.

Se divulgan en el presente documento métodos para disminuir niveles excesivos de glutamato en un paciente con enfermedad neurodegenerativa que comprende administrar por vía oral al paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un polímero de pirrolidona, en los que la relación de sulfasalazina al polímero de pirrolidona en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. y en el que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma esencialmente amorfa. En algunos de estos métodos, la sulfasalazina dispersa el polímero está en forma amorfa. En algunos de estos métodos, la relación entre sulfasalazina y el polímero de pirrolidona es de aproximadamente 25:75 p/p. En ciertos métodos de este párrafo, la composición farmacéutica comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En cada uno de los anteriores, la enfermedad o trastorno neurodegenerativo puede ser uno entre epilepsia, ictus o una lesión cerebral traumática. Como alternativa, la enfermedad o trastorno neurodegenerativo es enfermedad de Parkinson (EP), enfermedad de Alzheimer (EA) o de Huntington. En cada una de los anteriores, la enfermedad o trastorno neurodegenerativo puede ser MS progresiva (P-MS). En cada uno de los anteriores, la enfermedad o trastorno neurodegenerativo puede ser esclerosis lateral amiotrófica (ELA). En cada uno de los anteriores, la enfermedad o trastorno neurodegenerativo puede ser dolor neuropático. Como alternativa, en cada uno de los anteriores, la sulfasalazina es sulfasalazina amorfa. Como alternativa, la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es al menos de 500 µg/ml o al menos de 1200 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. Como alternativa, los métodos comprenden el uso de una de las composiciones farmacéuticas anteriormente citadas que comprenden sulfasalazina.

Métodos de tratamiento en combinación

En determinados aspectos de la divulgación, un paciente con ELA también recibe riluzol además de una composición farmacéutica de la invención. En algunas de estas realizaciones, el riluzol se administra al paciente en paralelo a la formulación farmacéutica. En ciertas realizaciones, el riluzol se administra al paciente en momentos diferentes que la

formulación farmacéutica.

En determinados aspectos de la divulgación, un paciente con P-MS también recibe Mitoxantrona, Gilenya, Masitinib, Siponimod, Tcelna, Tecfidera, Lemtrada, Laquinimod, Daclizumab, Ocrelizumab, Cladribine, Daclizumab, Tysabri, Campath, Rituximab, Fingolimod, Azatioprina o Ibudilast además de una composición farmacéutica de la invención. En algunas de estas realizaciones, el Mitoxantrona, Gilenya, Masitinib, Siponimod, Tcelna, Tecfidera, Lemtrada, Laquinimod, Daclizumab, Ocrelizumab, Cladribine, Daclizumab, Tysabri, Campath, Rituximab, Fingolimod, Azatioprina o Ibudilast se administran al paciente en paralelo con la composición farmacéutica. En ciertas realizaciones, el Mitoxantrona, Gilenya, Masitinib, Siponimod, Tcelna, Tecfidera, Lemtrada, Laquinimod, Daclizumab, Ocrelizumab, Cladribine, Daclizumab, Tysabri, Campath, Rituximab, Fingolimod, Azatioprine o Ibudilast se administran al paciente en momentos diferentes que la composición farmacéutica.

Regímenes de tratamiento para el tratamiento de la P-MS

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar P-MS en pacientes mediante la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor del sistema x_c^- a dichos pacientes. En algunos de estos métodos, el inhibidor del sistema x_c^- es sulfasalazina. Un trabajo anterior sometió a ensayo el uso de sulfasalazina para el tratamiento de esclerosis múltiple (RR-MS y P-MS) en seres humanos, por ejemplo Noseworthy et al, Neurology 15: 1342-1352 (1998). En este trabajo, los pacientes se trataron con 2 gramos de sulfasalazina al día, la dosis de mantenimiento típica utilizada en enfermedades no del SNC, tales como artritis reumatoide, por ejemplo Khan et al, Gut 21:232-240 (1980). La sulfasalazina no ralentizó la progresión de la enfermedad en el subgrupo RR-MS. En el subgrupo P-MS, los pacientes tratados con sulfasalazina tuvieron una reducción estadísticamente significativa de su acumulación de discapacidad, lo que los autores atribuyeron a un "efecto de tratamiento real". Véase id. en p. 1346. Sin embargo, no se han realizado otros ensayos clínicos de sulfasalazina para el tratamiento de P-MS o RR-MS. Otros trabajos anteriores demostraron que una dosis oral de 2 g de sulfasalazina administrada a seres humanos producía niveles plasmáticos superiores a 10 $\mu\text{g/ml}$ que se mantuvieron durante solamente 7 horas en personas con el genotipo ABCG2 (421C/C) (véase Yamasaki et al, Clin. Pharmac. Therap. 84: 95-103 (2007)), que el genotipo ABCG2 predominante entre poblaciones europeas caucásicas y afroamericanas (77% - 90%) véase, por ejemplo, de Jong et al, Clin. Cancer Res. 10:5889-5894 (2004). El trabajo anterior también ha mostrado que el efecto antiepiléptico de sulfasalazina administrada a un modelo de ratón a una dosis de aproximadamente 260-320 mg/kg por vía intraperitoneal ("IP") desaparece tres horas después de la administración (véase Buckingham et al, Nat Med. 17:1269-1274 (2011)). Puesto que los experimentos descritos en el presente documento indican que el nivel plasmático de sulfasalazina en un ratón que recibe una dosis IP de 200 mg/kg de sulfasalazina (una dosis aproximadamente un 30-60% inferior que en el estudio de Buckingham) es de aproximadamente 6 $\mu\text{g/ml}$ tres horas tras la administración (véase el Ejemplo 4), los inventores determinaron que es necesario un nivel plasmático de sulfasalazina de al menos aproximadamente 8-10 $\mu\text{g/ml}$ (ajustado para diferencias de dosis) para un efecto terapéutico con sulfasalazina sobre el sistema x_c^- en el compartimento del SNC. Basándose en esto, los inventores teorizan que los pacientes de P-MS tratados con sulfasalazina en el estudio Noseworthy recibieron una dosis menor que la necesaria. Por lo tanto, la divulgación también proporciona métodos para tratar la P-MS con sulfasalazina usando regímenes de dosificación y formulaciones mejorados.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar la P-MS en un paciente que comprende administrar al paciente una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina, en la que la sulfasalazina se dosifica a unos niveles y/o frecuencias suficientes para producir efectos terapéuticos mejorados. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con P-MS que comprende administrar por vía oral al paciente una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la dosis de la composición farmacéutica es suficiente para mantener un nivel plasmático de sulfasalazina en el paciente eficaz para el tratamiento de la P-MS durante al menos 14 horas totales al día. En algunas de dichas realizaciones, se mantiene un nivel plasmático de sulfasalazina en el paciente eficaz para tratar la P-MS durante entre 21 y 24, inclusive, horas totales al día. En algunas de dichas realizaciones, se mantiene un nivel plasmático de sulfasalazina en el paciente eficaz para tratar la P-MS durante 24 horas al día.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con P-MS que comprende administrar por vía oral al paciente una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la dosis de la composición farmacéutica es suficiente para mantener un nivel plasmático de sulfasalazina de al menos 8 $\mu\text{g/ml}$ durante al menos 14 horas totales al día. En algunas de dichas realizaciones, se mantiene un nivel plasmático de sulfasalazina de al menos 8 $\mu\text{g/ml}$ durante entre 21 y 24, inclusive, horas totales al día. En algunas de dichas realizaciones, se mantiene un nivel plasmático de sulfasalazina de al menos 8 $\mu\text{g/ml}$ durante 24 horas al día. En ciertas realizaciones de este párrafo, la dosis de la composición farmacéutica es suficiente para mantener un nivel plasmático de sulfasalazina de entre aproximadamente 8 $\mu\text{g/ml}$ y aproximadamente 30 $\mu\text{g/ml}$, inclusive, o entre aproximadamente 8 $\mu\text{g/ml}$ y aproximadamente 16 $\mu\text{g/ml}$, inclusive, o entre aproximadamente 10 $\mu\text{g/ml}$ y aproximadamente 16 $\mu\text{g/ml}$, inclusive, para la cantidad de tiempo dada.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con P-MS que comprende administrar al paciente una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la dosis de la composición farmacéutica es suficiente para producir un nivel plasmático de sulfasalazina en

el paciente de al menos 8 µg/ml durante el intervalo de dosificación completo. Para los fines de la presente solicitud, la condición "durante el intervalo de dosificación completo" se considerará cumplido si el nivel de sulfasalazina está en o por encima del nivel establecido al finalizar el intervalo de dosificación (pero antes de la siguiente administración de sulfasalazina). En algunos de estos métodos, la dosis de la composición farmacéutica es suficiente para producir un nivel plasmático de sulfasalazina en el paciente de al menos 10 µg/ml durante el intervalo de dosificación completo. En algunos otros métodos, la dosis de la composición farmacéutica es suficiente para producir un nivel plasmático de sulfasalazina en el paciente de al menos 16 µg/ml durante el intervalo de dosificación completo. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con P-MS que comprende administrar al paciente una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, dosis de la composición farmacéutica es suficiente para producir un nivel plasmático de sulfasalazina en el paciente de entre aproximadamente 8 µg/ml y aproximadamente 30 µg/ml, inclusive, durante el intervalo de dosificación completo. En algunos de estos métodos, la dosis de la composición farmacéutica es suficiente para producir un nivel plasmático de sulfasalazina en el paciente de entre aproximadamente 10 µg/ml y aproximadamente 30 µg/ml, inclusive, durante el intervalo de dosificación completo. En algunos otros métodos, la dosis de la composición farmacéutica es suficiente para producir un nivel plasmático de sulfasalazina en el paciente de entre aproximadamente 8 µg/ml y aproximadamente 12 µg/ml, inclusive, durante el intervalo de dosificación completo. En ciertos métodos de este párrafo, la sulfasalazina está en una forma esencialmente amorfa.

Una forma de aumentar los niveles plasmáticos de sulfasalazina es administrar dosis diarias más altas de la formulación normalizada de sulfasalazina a los pacientes. El trabajo anterior ha demostrado que, en los seres humanos, los niveles plasmáticos de sulfasalazina son proporcionales a la dosis oral, por ejemplo Khan et al, Gut 21:232-240 (1980). Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con P-MS que comprende administrar por vía oral al paciente una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica es una formulación normalizada de sulfasalazina y la dosis diaria total de sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 2,5 gramos y aproximadamente 8 gramos, inclusive. En algunos de estos métodos, la dosis diaria total de sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 3 gramos y aproximadamente 5 gramos, inclusive. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con P-MS que comprende administrar por vía oral al paciente una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica es una formulación normalizada de sulfasalazina y la dosis diaria total de sulfasalazina es de aproximadamente 3 gramos, aproximadamente 4 gramos, o de aproximadamente 5 gramos.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con P-MS que comprende administrar por vía oral al paciente una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que (a) la composición farmacéutica es una formulación normalizada de sulfasalazina, (b) la dosis en cada punto temporal de dosificación no es mayor de aproximadamente 4 gramos de sulfasalazina, (c) existen al menos dos puntos temporales de dosificación en un día, y (d) la dosis diaria total está entre aproximadamente 2,5 gramos y aproximadamente 8 gramos, inclusive. En algunos de estos métodos, existen dos puntos temporales de dosificación en un día. En algunos de estos métodos, existen tres puntos temporales de dosificación en un día. En algunos otros métodos, existen cuatro puntos temporales de dosificación en un día.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar la P-MS en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica es una formulación normalizada de sulfasalazina y la dosis de sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 2,5 gramos y aproximadamente 6 gramos, inclusive, y se administra una vez al día. En algunos de estos métodos, la dosis de sulfasalazina está comprendida entre aproximadamente 3 gramos y aproximadamente 5 gramos, inclusive, y se administra una vez al día. En algunos de estos métodos, la dosis de sulfasalazina es de aproximadamente 3 gramos, aproximadamente 4 gramos o de aproximadamente 5 gramos y se administra una vez al día.

Tratamiento de enfermedades y trastornos diferentes a enfermedades y tratamientos neurodegenerativos

Se divulga en el presente documento un método para tratar enfermedades donde la sulfasalazina se utiliza actualmente en clínica, y se cree que actúa sistémicamente, incluidas artritis reumatoide y espondilitis anquilosante, en el que dicho método comprende administrar una composición de la invención que comprende sulfasalazina en el que la solubilidad y/o la biodisponibilidad de la sulfasalazina aumenta. En la artritis reumatoide, la dosis de mantenimiento típica de sulfasalazina es de 2 g/día. Se ha comprobado que dosis más altas dan como resultado mayor eficacia, pero, lamentablemente, dosis más altas de sulfasalazina también dan como resultado una mayor incidencia de toxicidad, por ejemplo Khan et al, Gut 21:232-240 (1980). Al aumentar la solubilidad y/o la biodisponibilidad de la sulfasalazina, la presente invención proporciona un método de aumentar la dosis terapéutica de la sulfasalazina sin aumentar la toxicidad.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con artritis reumatoide y/o espondilitis anquilosante que comprende administrar por vía oral a un paciente con dolor neuropático una composición

farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la sulfasalazina está en una forma esencialmente amorfa. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización. En determinados métodos, la composición farmacéutica comprende un polímero farmacéuticamente aceptable. En algunos de estos métodos, el polímero farmacéuticamente aceptable es un polímero de pirrolidona. En algunos de estos métodos, el polímero de pirrolidona se selecciona del grupo que consiste en polivinilpirrolidona, vinilpirrolidona-acetato de vinilo y crospovidona. En determinados métodos, el polímero de pirrolidona es PVP VA64. En algunos de estos métodos, la relación de sulfasalazina a PVP VA64 en la composición farmacéutica es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. En determinados métodos, la relación entre sulfasalazina y PVP VA64 es de aproximadamente 25:75 p/p.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar artritis reumatoide y/o espondilitis anquilosante en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una rata da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que es al menos un 25 %, al menos un 50 %, al menos un 100 %, al menos un 150 %, al menos un 200 %, al menos un 250 % o al menos un 300 % mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una rata tal como se determina según el método del Ejemplo 10. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar artritis reumatoide y/o espondilitis anquilosante en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una rata da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que es de aproximadamente un 25 %, aproximadamente un 50 %, aproximadamente un 100 %, aproximadamente un 150 %, aproximadamente un 200 %, aproximadamente un 250 % o aproximadamente un 300 % mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una rata tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En determinados métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una rata da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 25 % y aproximadamente un 500 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una rata tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una rata da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 75 % y aproximadamente un 300 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una rata tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En algunos otros de dichos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la administración oral de la composición farmacéutica formulada a una rata da como resultado un nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de dicha administración que está comprendida entre aproximadamente un 100 % y aproximadamente un 200 %, inclusive, mayor que el nivel plasmático de sulfasalazina treinta minutos después de la administración del mismo nivel de dosis de sulfasalazina cristalina a una rata tal como se determina según el método del Ejemplo 10. En algunos métodos descritos en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización.

Se divulgan en el presente documento métodos que se proporcionan para tratar un paciente con artritis reumatoide y/o espondilitis anquilosante que comprende administrar por vía oral a un paciente con dolor neuropático una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición catalizadora comprende PVP VA 64 y la relación de la sulfasalazina al PVP VA64 en la composición farmacéutica es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. En algunos de estos métodos, la relación entre sulfasalazina y PVP VA64 es de aproximadamente 25:75 p/p. En ciertos de los métodos anteriores, la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma esencialmente amorfa.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar un paciente con artritis reumatoide y/o espondilitis anquilosante que comprende administrar por vía oral a un paciente con dolor neuropático una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y HPMCAS, en las que la relación de sulfasalazina a HPMCAS en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. En algunos de estos métodos, la relación entre sulfasalazina y HPMCAS es de aproximadamente 25:75 p/p. En algunos de estos métodos, la sulfasalazina está dispersa en una forma esencialmente amorfa.

En ciertas realizaciones, la divulgación proporciona métodos para tratar artritis reumatoide y/o espondilitis anquilosante en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la

composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de al menos 500 µg/ml, al menos 1200 µg/ml o al menos 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En ciertas realizaciones, la divulgación proporciona métodos para tratar artritis reumatoide y/o espondilitis anquilosante en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina es de aproximadamente 500 µg/ml, aproximadamente 1200 µg/ml o aproximadamente 2300 µg/ml a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En ciertas realizaciones, la divulgación proporciona métodos para tratar artritis reumatoide y/o espondilitis anquilosante en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 2300 µg/ml y aproximadamente 11.500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En algunas otras de dichas realizaciones, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina esté comprendida entre aproximadamente 500 µg/ml y aproximadamente 2500 µg/ml, inclusive, a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9. En ciertas realizaciones descritas en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización.

Se divulgan en el presente documento métodos para tratar artritis reumatoide y/o espondilitis anquilosante en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 es al menos 2 veces mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 es al menos 5 veces o al menos 8,8 veces mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar artritis reumatoide y/o espondilitis anquilosante en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en los que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 es de aproximadamente 2 veces, de aproximadamente 5 veces, o de aproximadamente 8,8 veces mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. Se divulgan en el presente documento métodos para tratar artritis reumatoide y/o espondilitis anquilosante en un paciente que comprende administrar por vía oral a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 2 veces y aproximadamente 44 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 2 veces y aproximadamente 8,8 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica se formula de forma que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina a un pH de 5,5 como se determina en el Ejemplo 9 está entre aproximadamente 8,8 veces y aproximadamente 44 veces, inclusive, mayor que la solubilidad *in vitro* de la sulfasalazina cristalina a un pH de 5,5 mediante análisis por ABC. En algunos métodos descritos en este párrafo, la composición farmacéutica es una de las composiciones farmacéuticas proporcionadas mediante la presente solicitud. En algunos de estos métodos, la composición farmacéutica está es una forma farmacéutica oral o en forma de dispersión seca en pulverización.

Se divulga en el presente documento un método para aumentar la biodisponibilidad de sulfasalazina en un mamífero, el método comprende administrar por vía oral una composición en forma de dispersión secada mediante pulverización que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de sulfasalazina y un polímero de pirrolidona, en la que la sulfasalazina dispersa en el polímero está en forma esencialmente amorfa. En algunos de estos métodos, la sulfasalazina está en una forma amorfa. En algunos de estos métodos, la dispersión secada mediante pulverización comprende además un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Otros inhibidores del sistema x_c^-

Se divulgan en el presente documento métodos que se proporcionan para tratar un paciente que tienen una enfermedad o trastorno neurodegenerativos que comprende administrar al paciente una cantidad eficaz de un inhibidor del sistema x_c^- diferente a sulfasalazina. En algunos de estos métodos, el inhibidor del sistema x_c^- se selecciona entre (S)-4-carboxifenilglicina, amino adipato del ácido 2-hidroxi-5-((4-(N-piridin-2-ilsulfamoyl)fenil)etinitil)benzoico (AAA), ácido 4-(1-(2-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)hidrazono)etil)-5-(4(trifluorometil)bencil)isoxazol-3-carboxílico, ácido 5-bencil-4-(1-(2-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)hidrazono)etil)isoxazol-3-carboxílico y ácido 2-hidroxi-5-[2-[4-[(3-metilpiridin-2-

il)sulfamoil]fenil]etnil]benzoico.

Las siguientes realizaciones, aspectos y variaciones de los mismos son a modo de ejemplo e ilustrativos, y no se pretende que limiten el alcance. La invención se define en las reivindicaciones.

5

Descripciones de las figuras

La Fig. 1 muestra curvas de supervivencia absoluta Kaplan-Meier representativas en ratones SOD1^{G93A} (a partir de ahora en el presente documento, "ratones SOD1"). Las cohortes tratadas con vehículo (CTRL) y tratadas con sulfasalazina (DRUG) se representan gráficamente en gris y negro, respectivamente.

10

La Fig. 2 es representativa de histogramas que muestran la distribución de la duración de la vida en ratones tratados con vehículo y con sulfasalazina tras el inicio de la enfermedad neurológica definitiva.

La Fig. 3 muestra un gráfico representativo del porcentaje de cambio en la duración de la vida tras el inicio de la enfermedad neurológica definitiva en ratones SOD1 tratados con riluzol, ibuprofeno, MR1 y sulfasalazina.

15

La Fig. 4 muestra muestras representativas de los ratones del Día 100 teñidas para la expresión de la proteína xCT (marrón).

La Fig. 5 es representativa de un análisis por fracciones de área de la expresión de xCT en el cuerno ventral de las regiones cervical y lumbar de la médula espinal de ratones en el día 85 y en el día 100. El símbolo "*" indica que la medición indicada entre los grupos alcanzó una significación estadística de $p < 0,05$.

20

La Fig. 6 muestra un gráfico representativo de un análisis de fracciones de área que compara la expresión de xCT de ratones en el día 85 y en el día 100. El eje y cuantifica la expresión de xCT en el cuerno ventral de las regiones cervical, torácica y lumbar combinadas en los ratones SOD1 tratados con vehículo y en los ratones silvestres. El símbolo "*" indica que la medición indicada entre los grupos alcanzó una significación estadística de $p < 0,05$.

La Fig. 7 muestra imágenes representativas del cuerno ventral de la médula espinal de ratones del Día 85 teñidas para observar la activación de la microglía usando anticuerpo dirigido contra F4/80. La microglía activada se muestra de color marrón.

25

La Fig. 8 muestra muestras representativas de los ratones del Día 100 teñidas para observar la activación de astrocitos usando anticuerpo dirigido contra GFAP. Los astrocitos activados se muestran de color marrón.

La Fig. 9 muestra la cuantificación por fracciones de área de los astrocitos y células gliales activadas en las regiones cervical y lumbar del cuerno ventral en ratones del día 85. Las imágenes se analizaron de forma enmascarada y se tabuló la fracción de área media ocupada por la tinción. Los símbolos "*" y "***" indican que la medición indicada entre los grupos alcanzó una significación de $p < 0,05$ y $p < 0,01$, respectivamente.

30

La Fig. 10 muestra la cuantificación por fracciones de área de los astrocitos y células gliales activadas en las regiones cervical y lumbar del cuerno ventral en ratones del día 100. Los símbolos "*", "***" y "****" indican que la medición indicada entre los grupos alcanzó una significación estadística de $p < 0,05$, $p < 0,01$ y $p < 0,001$, respectivamente.

35

La Fig. 11 muestra un gráfico representativo de la concentración de sulfasalazina en la médula espinal de ratones SOD1 frente al tiempo.

La Fig. 12 es una representación gráfica de la solubilidad *in vitro* de sulfasalazina en función del pH.

40

La Fig. 13 es un gráfico significativo de los resultados del análisis por difracción de rayos X en polvo (XRPD) de diversas formulaciones de sulfasalazina.

La Fig. 14 es un gráfico significativo de los resultados del análisis mediante calorimetría de barrido diferencial modulado (mDSC) de composiciones sulfasalazina. La curva de la temperatura de transición vítrea (T_g) resultante se usa para determinar la homogeneidad de la composición.

45

La Fig. 15 es un gráfico representativo de los resultados de medir la solubilidad de las preparaciones de sulfasalazina en tampón gástrico (GB) y tampón intestinal (IB) de formulaciones de sulfasalazina.

La Fig. 16 es un gráfico representativo de los resultados que muestran un aumento en la biodisponibilidad oral de sulfasalazina en ratas Sprague-Dawley después de la reformulación.

50

Además de las realizaciones ilustrativas, aspectos y variaciones anteriormente descritos, otras realizaciones, aspectos y variaciones serán evidentes por referencia los dibujos y las figuras, y la inspección de las siguientes descripciones.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

55

A no ser que se indique específicamente otra cosa en el presente documento, las definiciones de los términos usados son definiciones normalizadas utilizadas en la técnica de la síntesis orgánica y de las ciencias farmacéuticas. Las realizaciones ilustrativas, aspectos y variaciones se han ilustrado en las figuras y en los dibujos, y se pretende que las realizaciones, aspectos y variaciones, y que las figuras y dibujos divulgados en el presente documento, se consideren como ilustrativos y no limitantes.

60

Tal como se usa en el presente documento, "enfermedad o trastorno neurodegenerativo" significa enfermedades de sistema nervioso que están causadas, al menos en parte, por una excesiva señalización del glutamato. Ejemplos de enfermedades neurodegenerativas donde los antiglutamatérgicos se utilizan clínicamente incluyen la enfermedad de Parkinson (Amantadina y Budipina), enfermedad de Alzheimer (memantina), dolor neuropático (Topamax,

65

Pregabalina), epilepsia (Carbamazepina, Lamictal, Keppra), y ELA (Rilutek). Los agentes antiglutamatérgicos también están en investigación para su uso en la lesión cerebral traumática, enfermedad de Huntington, accidente cerebrovascular isquémico y esclerosis múltiple.

5 **"Amorfo"** se refiere a una forma de estado sólido de un compuesto (por ejemplo, sulfasalazina) que es no cristalina, que no tiene, o no tiene prácticamente, una estructura molecular de red cristalina, en la que las posiciones de la estructura tridimensional de las moléculas unas respecto de otras son esencialmente aleatorias. Véase, por ejemplo, Hancock et al. "Characteristics and significance of the amorphous state in pharmaceutical systems" J. Pharm. Sci. Vol. 86, pp. 1-12 (1997). Como resultado, un material amorfo tendrá un orden a corta distancia de tipo líquido y, cuando se
10 analiza mediante difracción de rayos X, generalmente producirá una dispersión amplia y difusa y dará como resultado intensidades de pico algo centradas en una o más bandas anchas (conocido como halo amorfo). Por lo tanto, el análisis XRPD de un material amorfo proporcionará un patrón 2-theta con una o más bandas amplias sin picos distintivos; a diferencia de los patrones de un material sólido cristalino. Tal como se usa en el presente documento, **"esencialmente amorfo"** significa que el compuesto en el material está al menos en un 80 % en forma amorfa (es decir, no más del
15 20 % del compuesto es cristalino), lo que significa que dicho material puede presentar uno o más picos distintivos en un análisis XRPD.

"Biodisponibilidad" se refiere al porcentaje de una dosis de fármaco que entra en la circulación cuando dicha dosis del fármaco se ha administrado por vía oral a un ser humano, roedor, u otro animal.

20 **Solubilidad "in vitro"** en referencia a la solubilidad de la sulfasalazina significa el valor de la $C_{\text{máx}}$ IB a 90 minutos para la solubilidad de la sulfasalazina (como se ilustra en la Tabla 9) cuando se mide por los métodos del Ejemplo 9.

"Formulación normalizada de sulfasalazina" se refiere a formulaciones de sulfasalazina que se consideran esencialmente equivalentes a Azulfidina en términos de biodisponibilidad de la sulfasalazina en la formulación. Estas formulaciones incluyen, aunque no de forma limitativa, Azulfidine®, Azulfidine® EN (con revestimiento entérico), Salazopirin®, Salazopirin® EN (con revestimiento entérico), SULFASALAZINE TABLETS (Watson Laboratories), SULFAZINE® (Vintage Pharmaceuticals, Inc.), Sazo En (Wallace Pharmaceuticals Ltd.), Salazopirin EN (Wallace Pharmaceuticals Ltd.), Salazopirin (Wallace Pharmaceuticals Ltd.), Sazo EC (Wallace Pharmaceuticals Ltd.), Saz (IPCA Laboratories Ltd.), Saz DS (IPCA Laboratories Ltd.), Zemosal (Sun Pharmaceutical Industries Ltd.), Colizine (Synmedic Laboratories), Iwata (Cadila Pharmaceuticals Ltd.), y Salazar EC (Cadila Pharmaceuticals Ltd.).

"Intervalo de dosificación", en la presente solicitud, significa el periodo de tiempo entre administraciones de una composición a un paciente. Por ejemplo, si un fármaco se administra a un paciente cada 8 horas, entonces, el intervalo de dosificación es el periodo de 8 horas que sigue la administración del fármaco. Para los fines de la presente solicitud, la condición "durante el intervalo de dosificación completo" se considerará cumplido si el nivel de sulfasalazina está en o por encima del nivel establecido al finalizar el intervalo de dosificación (pero antes de la siguiente administración de sulfasalazina).

40 **"Excipiente"** es un material utilizado en las composiciones de la presente solicitud, y pueden ser materiales sólidos, semisólidos o líquidos que sirven como vehículos, transportadores o medio para el principio activo, tal como sulfasalazina. Los excipientes típicos se pueden encontrar en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, A. Gennaro, ed., 20ª edición, Lippincott, Williams & Wilkins, Filadelfia, Pa.; Handbook of Pharmaceutical Excipients de Raymond C. Rowe, Paul J. Sheskey, Walter G. Cook y Marian E. Fenton. 7ª Edición, Pharmaceutical Press, Londres, farmacopeas británica y estadounidense, y National Formulary (USP-NF), Rockville, MD. Los excipientes incluyen, aunque no de forma limitativa, polímeros farmacéuticamente aceptables.

"Sales farmacéuticamente aceptables" significa composiciones de sal que se consideran generalmente con la actividad farmacológica deseada, se consideran seguras, no tóxicas y es aceptable para aplicaciones farmacéuticas veterinarias y para seres humanos. Dichas sales incluyen sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico y similares; o con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido cítrico, ácido glucónico, ácido salicílico y similares.

55 **"PVP VA64"**, tal como se usa en el presente documento, significa copolímeros de vinilpirrolidona-acetato de vinilo con la fórmula general $(C_6H_9NO)_n \times (C_4H_6O_2)_m$. Las fuentes de PVP VA64 incluyen, aunque no de forma limitativa, BASF (Ludwigshafen, Alemania) como Kollidon® VA 64 y Shanghai Lite Chemical Technology Co., Ltd. como Copovidona (PVP/VA64).

60 **"Copolividona", "Crospovidona" o "polivinilpirrolidona polivinilacetato"** es un copolímero de polivinilpirrolidona y poli(acetato de vinilo).

"Polivinilpirrolidona" o "PVP" se refiere a un polímero, tanto un homopolímero como un copolímero, que contiene N-vinilpirrolidona como unidad monomérica. Los polímeros de PVP típicos son PVP homopoliméricos y el copolímero de acetato de vinilo con vinilpirrolidona. Los PVP homopoliméricos son conocidos de la industria farmacéutica con una variedad de designaciones entre las que se incluyen Povidona, Polividona, Polividonum, Polividonum soluble y poli(1-

vinil-2-pirrolidona). El copolímero de acetato de vinilo con vinilpirrolidona es conocido en la industria farmacéutica como Copolividón, Copolividona y Copolividonum.

"Esclerosis múltiple progresiva" o "P-MS" se refiere a todos los subtipos de la esclerosis múltiple progresiva caracterizados por una acumulación crónica de discapacidad, que son la esclerosis múltiple primaria progresiva (PP-MS), esclerosis múltiple secundaria progresiva (SP-MS) y esclerosis múltiple progresiva con recaídas (PR-MS).

"Cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad de sulfasalazina u otro principio activo de la solicitud que desencadena cualquiera de los efectos de tratamiento relacionadas en la memoria descriptiva. Para ser claros, cuando una dosis unitaria de un principio activo de la presente solicitud se administra en múltiples dosis en un día, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" incluye dosis unitarias que son por sí mismas subterapéuticas, pero que de forma acumulada dan como resultado una cantidad administrada que desencadena un efecto terapéutico.

"Tratar" o "tratamiento" de una enfermedad, tal como se usa en el presente documento, significa (a) inhibir o retrasar la progresión de la enfermedad, (b) reducir la extensión de la enfermedad, (c) reducir o prevenir la recurrencia de la enfermedad, y/o (d) curar la enfermedad. Tratar o tratamiento incluyen, aunque no de forma limitativa, uno o más de (1) limitar, inhibir o reducir la velocidad de acumulación de la discapacidad y/o pérdida de la función de las neuronas motoras; (2) retrasar la progresión de la enfermedad, tales como P-MS o ELA; (3) limitar, inhibir o reducir la disfunción neuronal y/o la atrofia muscular, (4) limitar o detener su desarrollo, (5) aliviar la enfermedad, tales como P-MS o ELA, es decir, producir la regresión de P-MS o ELA; (6) reducir o prevenir la recurrencia de la acumulación de discapacidad y/o la pérdida de la función de las neuronas motoras; (7) reducir o prevenir la recurrencia de la disfunción neuronal y/o la atrofia muscular; (8) paliar los síntomas de la enfermedad, tales como P-MS ELA, (9) aumentar la supervivencia después del inicio de P-MS o ELA; y/o, (10) atenuación de la neuroinflamación.

Composiciones terapéuticas

La invención proporciona composiciones farmacéuticas para su uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos neurodegenerativos. En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas que comprenden sulfasalazina se formulan de forma que la biodisponibilidad de la sulfasalazina en la composición farmacéutica administrada está aumentada en comparación con la administración de la sulfasalazina cristalina o la formulación normalizada de sulfasalazina.

Las composiciones farmacéuticas de la invención utilizan PVP VA64, y dichas composiciones pueden incluir polivinilpirrolidona y copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno (también conocidos como poloxámeros). Las composiciones farmacéuticas de la divulgación también pueden utilizar una o más composiciones poliméricas y aditivos que están relacionados con HPMCAS-MG tales como acetatosuccinato de hidroxipropilmetilcelulosa (las calidades L, M, y H, conocidas como calidades AQUAT-L, AQUAT-M y AQUAT-H), ftalato de hidroxipropil metil celulosa (HPMCP), acetato ftalato de celulosa (CAP), acetato trimelitato de celulosa (CAT), acetatosuccinato de celulosa, acetatosuccinato de metilcelulosa, carboximetil etil celulosa (CMEC), hidroxipropilmetilcelulosa y acetato de hidroxipropilmetilcelulosa.

Los polímeros farmacéuticamente aceptables divulgados en el presente documento incluyen, aunque no de forma limitativa, PVP VA64, polivinilpirrolidona, copolímeros de polioxietileno-polioxipropileno (también conocidos como poloxámeros), acetatosuccinatoftalato de hidroxipropilmetilcelulosa (HPMCAS), ftalato de hidroxipropil metil celulosa (HPMCP), acetato ftalato de celulosa (CAP), acetato trimelitato de celulosa (CAT), acetatoftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetatotrimelitato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetatosuccinato de celulosa, acetatosuccinato de metilcelulosa, carboximetil etil celulosa (CMEC), hidroxipropilmetilcelulosa y acetato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulosa (las calidades L, M, y H, conocidas como calidades AQUAT-L, AQUAT-M y AQUAT-H).

En un aspecto, las composiciones farmacéuticas de la invención comprenden sulfasalazina y un polímero, en las que la relación de sulfasalazina a polímero en la composición es de 5:95 p/p a 50:50 p/p. En otro aspecto, la relación de sulfasalazina a polímero es de 5:95 p/p a 45:55 p/p, 10:90 p/p a 40:60 p/p, 15:85 p/p a 35:65 p/p, o 20:80 p/p a 30:70 p/p, y en las que el polímero es PVP VA64.

Las composiciones farmacéuticas comprenden excipientes farmacéuticamente aceptables. Dichos excipientes incluyen, aunque no de forma limitativa, polivinilpirrolidona, gelatina, hidroxixelulosa, goma arábiga, polietilenglicol, manitol, cloruro de sodio, citrato de sodio y polímeros farmacéuticamente aceptables.

Los transportadores sólidos o líquidos se pueden añadir para potenciar o estabilizar la composición, o para facilitar la preparación de la composición. Los transportadores líquidos incluyen jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, glicerina, solución salina, alcoholes o agua. Los transportadores sólidos incluyen almidón, lactosa, sulfato de calcio, dihidrato, terra alba, estearato de magnesio o ácido esteárico, talco, pectina, goma arábiga, agar o gelatina. El transportador también puede incluir un material de liberación sostenida tales como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, en solitario o junto con una cera. La cantidad de transportador sólido varía pero, preferentemente, estará comprendido entre aproximadamente 20 mg y aproximadamente 1 g por dosis unitaria. Las

preparaciones farmacéuticas se realizan siguiendo las técnicas convencionales en farmacia que implican molienda, mezclado, granulación y compresión, según sea necesario, para formas en comprimido; o molienda, mezclado y relleno para formas en cápsula de gelatina dura. Si se usa un transportador líquido, la preparación puede estar en la forma de un jarabe, elixir, emulsión o una suspensión acuosa o no acuosa. Dicha formulación líquida se puede administrar directamente por boca o introducirse en una cápsula de gelatina blanda.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen una composición no tóxica farmacéuticamente aceptable formada mediante la incorporación de cualquiera de los excipientes utilizados normalmente, tales como, por ejemplo, manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, talco, celulosa, croscarmelosa sódica, glucosa, gelatina, sacarosa, carbonato de magnesio y combinaciones de los mismos. Dichas composiciones incluyen suspensiones, comprimidos, comprimidos dispersables, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación sostenida y similares.

Además, las composiciones pueden comprender transportadores farmacéuticamente aceptables o sustancias auxiliares habituales, tales como abrillantadores; agentes humectantes; agentes emulsionantes y de suspensión; conservantes; antioxidantes; antiirritantes; agentes quelantes; sustancias auxiliares para revestimiento; estabilizantes de la emulsión; agentes filmógenos; agentes formadores de gel; agentes enmascarantes del olor; correctores del sabor; resina; hidrocoloides; disolventes; solubilizantes; agentes neutralizantes; aceleradores de la difusión; pigmentos; compuestos de amonio cuaternario; derivados de silicona; sustancias auxiliares de la diseminación; estabilizantes; esterilizantes; bases para supositorio; sustancias auxiliares para comprimidos, tales como aglutinantes, cargas, disgregantes o revestimientos; propelentes; agentes de secado; opacantes; espesantes; ceras; plastificantes y minerales de parafina blanca.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención se administran en una forma farmacéutica oral. Las formas farmacéuticas orales que se pueden usar en la invención incluyen, aunque no de forma limitativa, píldoras, comprimidos, comprimidos masticables, cápsulas, jarabes, formulaciones de liberación sostenida y suspensiones. En algunas realizaciones, cuando la composición es una píldora o comprimido, la composición puede contener, junto con sulfasalazina, un diluyente tal como lactosa, sacarosa, fosfato dicálcico o similares; un lubricante tal como estearato de magnesio o similares; y un aglutinante tal como almidón, goma arábiga, gelatina, polivinilpirrolidincelulosa y derivados de los mismos, y similares. En otras realizaciones, las formas de la composición en comprimido pueden incluir uno o más de lactosa, sacarosa, manitol, almidón de maíz, almidón de patata, ácido alginico, celulosa microcristalina, goma arábiga, gelatina, goma guar, dióxido de silicio coloidal, croscarmelosa de sodio, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de cinc, ácido esteárico, conservantes, agentes aromatizantes, agentes disgregantes farmacéuticamente aceptables, agentes de humedecimiento y transportadores farmacológicamente compatibles; y combinaciones de los mismos. En otras realizaciones, las formulaciones adecuadas para administración oral pueden consistir en suspensiones líquidas tal como una cantidad eficaz de sulfasalazina suspendida en diluyentes tales como agua, solución salina o zumo de naranja; sobrecitos, pastillas para chupar y trociscos, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada de sulfasalazina en forma sólida o de gránulos; polvos, suspensiones en el líquido adecuado anterior; y emulsiones adecuadas.

En ciertas realizaciones, se proporcionan composiciones farmacéuticas que contienen una dispersión sólida de sulfasalazina y al menos un polímero en las que la sulfasalazina está presente en forma esencialmente amorfa. En otras realizaciones, se proporciona un método para preparar la sulfasalazina amorfa. Un método para producir una dispersión molecular sólida de la sulfasalazina amorfa proporcionada en el presente documento implica el secado por pulverización del disolvente. Otras técnicas que se pueden usar para preparar dispersiones moleculares sólidas de sulfasalazina amorfa incluyen, aunque de forma no limitativa: (1) molienda; (2) extrusión; (3) procesos en estado fundido, incluidos procesos de amasado en alto fundido y procesos de amasado en fundido; (4) fusión modificada con disolventes; (5) procesos con disolventes, incluido el recubrimiento por pulverización, liofilización, evaporación del disolvente (por ejemplo, evaporación rotatoria) y secado por pulverización; y (6) precipitación sin disolventes.

En un aspecto, las composiciones farmacéuticas de la invención se formulan mediante secado por pulverización. Existen varios métodos para crear composiciones secadas mediante pulverización, por ejemplo, véanse los documentos EP1469830, EP1469833, EP1653928, WO 2010/111132, WO 96/09814; WO 97/44013; WO 98/31346; WO 99/66903; WO 00/10541; WO 01/13893, WO 2012/031133, WO 2012/031129, y las patentes de Estados Unidos n.º 6.763.607, 6.973.741, 7.780.988 y 8.343.550. En ciertas de estas realizaciones, el diámetro promedio en volumen de la dispersión secada por pulverización es menos de aproximadamente 500 micrómetros o menos de aproximadamente 200 micrómetros o menos de aproximadamente 100 micrómetros o menos de aproximadamente 50 micrómetros o menos de aproximadamente 10 micrómetros. En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención se formulan como nanopartículas. Existen múltiples enfoques para formular las composiciones farmacéuticas como nanopartículas, por ejemplo, véanse los documentos WO 2009/073215, las patentes de Estados Unidos números 8.309.129; 8.034.765 y 5.118.528.

Las cargas típicas de sulfasalazina en la formulación pueden ir del 1 % en peso de API al 50 % en peso en las composiciones, aunque más probablemente estarán comprendidas del 5 % en peso de API al 50 % en peso, o 10 % en peso al 40 % en peso. Esto dependerá de varios factores, que incluyen (1) la naturaleza de los polímeros en la composición, y (2) la estabilidad en almacenamiento de la composición (por ejemplo, su tendencia a la separación de

fases). La sulfasalazina preparada y utilizada en las composiciones de la presente solicitud puede ser amorfa. En un aspecto particular, el espectro de XRPD de la sulfasalazina amorfa muestra un patrón 2-theta con una banda amplia sin picos distintivos. La sulfasalazina utilizada en las composiciones de la presente solicitud son al menos un 80 % amorfas, 90 % amorfas, al menos un 93 % amorfas, al menos un 95 % amorfas, al menos un 97 % amorfas, al menos un 98 % amorfas, al menos un 99 % amorfas, al menos un 99,5 % o aproximadamente un 100% amorfas. En otro aspecto, el resto, o balance, de la sulfasalazina utilizada en las composiciones son material cristalino, material semicristalino, o una combinación de materiales cristalinos y semicristalinos, como se determina mediante XRPD.

También se incluyen en las anteriores realizaciones, aspectos y variaciones las sales de sulfasalazina, tales como arginato y similares, gluconato, y galacturonato. Determinados de los compuestos pueden existir tanto en formas no solvatadas como en formas solvatadas, incluidas formas de hidrato, y se pretende que están comprendidas en el alcance de la presente invención. Algunos de los compuestos anteriores también pueden existir en una o más fases sólidas o cristalinas o polimorfos, las variables actividades biológicas de dichos polimorfos o mezclas de dichos polimorfos también están incluidas en el alcance de la presente invención.

En el presente documento se divulgan métodos para tratamiento de la P-MS, ELA u otras enfermedades neurodegenerativas que comprenden administrar composiciones farmacéuticas que comprenden cantidades eficaces de inhibidores del sistema χ_c^- diferentes a la sulfasalazina. En diversas realizaciones, los inhibidores del sistema χ_c^- incluyen, aunque no de forma limitativa, (S)-4-carboxifenilglicina, amino adipato del ácido 2-hidroxi-5-((4-(N-piridin-2-ilsulfamoyl)fenil)etil)benzoico (AAA), ácido 4-(1-(2-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)hidrazono)etil)-5-(4(trifluorometil)bencil)isoxazol-3-carboxílico, ácido 5-bencil-4-(1-(2-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)hidrazono)etil)isoxazol-3-carboxílico, y ácido 2-hidroxi-5-[2-[4-[(3-metilpiridin-2-il)sulfamoyl]fenil]etil]benzoico. Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas que comprenden estos inhibidores se pueden generar por diversos métodos, incluidos los descritos en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, A. Gennaro, ed., 20ª edición, Lippincott, Williams & Wilkins, Filadelfia, Pa.

Administración

En diversas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden administrar a los pacientes mediante dosificación por vía oral. En algunas de dichas realizaciones, la composición farmacéutica que comprende sulfasalazina se formula de manera que la biodisponibilidad oral de la sulfasalazina es mayor que la de la sulfasalazina cristalina o que las formulaciones actualmente comercializadas de la sulfasalazina.

En diversas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden administrar a un paciente por varias vías diferentes a la dosificación oral tales como, aunque no de forma limitativa, se administra por vía intravenosa, intramuscular, bucal y rectal. Las formulaciones adecuadas para cada uno de estos métodos de administración se pueden encontrar en, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, A. Gennaro, ed., tal como se ha indicado anteriormente.

La dosis específica de una composición farmacéutica de la invención administrada a un paciente se puede determinar teniendo en cuenta las diferentes circunstancias del paciente en tratamiento tales como la vía de administración, la formulación de la composición farmacéutica, los antecedentes médicos del paciente, el peso del paciente, la edad y el sexo del paciente, y la gravedad de la dolencia que se está tratando. En algunas realizaciones, se administra al paciente una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina donde la cantidad de sulfasalazina está comprendida entre 100 y 20.000 miligramos/dosis. En algunas realizaciones, se administra al paciente una cantidad de sulfasalazina entre 200 y 10.000 miligramos/dosis. En algunas realizaciones, se administra al paciente una cantidad de sulfasalazina entre 400 y 4000 miligramos/dosis. En algunas realizaciones, se administra al paciente una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina donde la cantidad de sulfasalazina está comprendida entre 500 y 2.000 miligramos/dosis.

La frecuencia de administración de una composición farmacéutica de la invención a un paciente se puede determinar teniendo en cuenta las diferentes circunstancias del paciente en tratamiento tales como la vía de administración, la formulación de la composición farmacéutica, los antecedentes médicos del paciente, el peso del paciente, la edad y el sexo del paciente, la velocidad de progresión de la enfermedad y la gravedad de la dolencia que se va a tratar. En algunas realizaciones, se administra al paciente una dosis de la composición farmacéutica más de una vez. En algunas realizaciones, se administra al paciente una dosis de la composición farmacéutica una vez al día. En algunas realizaciones, se administra al paciente una dosis de la composición farmacéutica que comprende sulfasalazina, tres veces al día o cuatro veces al día. En algunas realizaciones, se administra al paciente una dosis de la composición farmacéutica de la invención menos frecuentemente que una vez al día, por ejemplo, una vez cada dos días o una vez a la semana.

La duración del tratamiento según los métodos divulgados en el presente documento se puede determinar teniendo en cuenta las diferentes circunstancias del paciente en tratamiento tales como los antecedentes médicos del paciente, el peso del paciente, la edad y el sexo del paciente, la velocidad de progresión de la enfermedad y la gravedad de la dolencia que se va a tratar. En algunas realizaciones, el paciente se trata durante el resto de su vida. En algunas realizaciones, el paciente se trata mientras la enfermedad esté activa. En algunas realizaciones, el paciente se trata

durante menos de un mes. En algunas realizaciones, el paciente se trata durante más de un mes, por ejemplo, durante un año.

En algunas realizaciones, las composiciones farmacéuticas de la invención se administran a un paciente junto con una o más composiciones farmacológicas adicionales. Dichas una o más composiciones farmacológicas adicionales se pueden administrar en paralelo con las composiciones farmacéuticas de la invención o bien se pueden administrar en momentos separados. En ciertas realizaciones, la una o más composiciones farmacológicas adicionales se formulan en composiciones farmacéuticas de la invención. En otras realizaciones, la una o más composición farmacológica y la composición farmacéutica de la invención se administran como composiciones independientes. En algunas realizaciones, Mitoxantrona, Gilenya, Masitinib, Siponimod, Tcelna, Tecfidera, Lemtrada, Laquinimod, Daclizumab, Ocrelizumab, Cladribine, Daclizumab, Tysabri, Campath, Rituximab, Fingolimod, Azatioprina o Ibudilast se administran junto con una composición farmacéutica de la invención a pacientes con P-MS. En algunas de dichas realizaciones, Mitoxantrona, Gilenya, Masitinib, Siponimod, Tcelna, Tecfidera, Lemtrada, Laquinimod, Daclizumab, Ocrelizumab, Cladribine, Daclizumab, Tysabri, Campath, Rituximab, Fingolimod, Azatioprina o Ibudilast se administran junto con una composición farmacéutica de la invención que comprende sulfasalazina. En ciertas realizaciones, Mitoxantrona, Gilenya, Masitinib, Siponimod, Tcelna, Tecfidera, Lemtrada, Laquinimod, Daclizumab, Ocrelizumab, Cladribine, Daclizumab, Tysabri, Campath, Rituximab, Fingolimod, Azatioprina o Ibudilast se administran a pacientes con P-MS junto con una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y PVP VA64, en las que la relación de sulfasalazina a PVP VA64 en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p. En algunas realizaciones, riluzol se administra junto con una composición farmacéutica de la invención a pacientes con ELA. En algunas de dichas realizaciones, riluzol se administra junto con una composición farmacéutica de la invención que comprende sulfasalazina. En ciertas realizaciones, riluzol se administran a pacientes con ELA junto con una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y PVP VA64, en las que la relación de sulfasalazina a PVP VA64 en la composición es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos están destinados a ser meramente ilustrativos de la invención y no deben considerarse limitantes de la invención de ninguna manera. Los ejemplos no pretenden representar que los experimentos a continuación son todos o los únicos experimentos realizados. Se han realizado esfuerzos para garantizar la precisión con respecto a los números usados, pero se deben tener en cuenta algunos errores y desviaciones experimentales. Salvo que se indique otra cosa, las partes o porcentajes son en peso, la temperatura está en grados centígrados (°C) y la presión es atmosférica o próxima a ella. Estos ejemplos se pueden utilizar para la preparación de las composiciones y la formulación de la presente solicitud.

Ejemplo 1 (Referencia)

El tratamiento con sulfasalazina aumenta la supervivencia absoluta y aumenta la duración de la vida de ratones SOD1 tras el inicio de la enfermedad neurológica definitiva

Los siguientes experimentos demuestran que el tratamiento con sulfasalazina: (1) aumentan la duración de la vida absoluta de ratones SOD1, y (2) extienden la vida de ratones SOD1 tras el inicio de la enfermedad neurológica definitiva. Este último parámetro de supervivencia es pertinente para los pacientes humanos, que normalmente no iniciarán la terapia hasta el diagnóstico definitivo de ELA.

Los ratones transgénicos con alto número de copias de SOD1^{G93A} se derivaron de la cepa B6SJL-TgN(SOD1G93A)1Gur, obtenida de The Jackson Laboratory (Bar Harbor, Maine) y producida originariamente por Gurney, por ejemplo Gurney et al., Science 264: 1772-1775 (1994). Los experimentos en animales con el modelo SOD1 se realizaron en el ALS Therapy Development Institute (en el presente documento "ALS-TDI"; Cambridge, MA). Todos los ratones se genotiparon para verificar el número de copias del transgén SOD1. La manipulación de los animales y los protocolos del estudio fueron los anteriormente descritos por ALS-TDI, por ejemplo Scott et al., Amyotroph. Lateral Scler. 9: 4-15 (2008).

Los grupos se equilibraron con respecto al sexo y al peso corporal dentro del sexo. Además, los grupos se emparejaron por edad y se hicieron coincidir compañeros de camada. Cada macho y hembra en el grupo de tratamiento con fármaco tuvo un correspondiente compañero de camada macho y hembra en el grupo de tratamiento con vehículo. En el estudio se utilizaron un total de 59 ratones, divididos en 2 cohortes como se muestra en la Tabla 1. Cada cohorte se equilibró entre machos y hembras.

Tabla 1: Cohortes utilizadas en el estudio de supervivencia

Cohorte	Genotipo	Tratamiento	Macho / hembras
1 (n = 32)	SOD1	Control con vehículo	16 / 16
2 (n = 27)	SOD1	Sulfasalazina (Tratamiento con fármaco)	14 / 13

A partir de una edad de 50 días, los ratones recibieron sulfasalazina o solución salina dos veces al día (con separación de 8 horas), 7 días a la semana a una dosis de 200 mg/kg. La sulfasalazina se preparó pesando 100 mg del compuesto en un tubo corning de 50 ml. Se añadieron 5 ml de NaOH 0,1 N y el tubo se sonicó suavemente. A continuación se añadieron 140 µl de HCl 1 N para llevar el pH hasta 8,00. La solución resultante de 20 mg/ml se suministró mediante inyección intraperitoneal a 10 ml/kg. Los ratones tratados con vehículo recibieron solución salina.

Las puntuaciones neurológicas se evaluaron diariamente desde el día 50 para ambas extremidades inferiores. La puntuación neurológica se basó en una escala de 0 a 4. Los criterios usados para asignar cada nivel de puntuación derivan de Scott et al., Amyotroph. Lateral Scler. 9: 4-15 (2008) y se describen en la Tabla 2.

Tabla 2: Criterios para asignar puntuaciones neurológicas

Puntuación	Criterio
0	<i>Sin sintomatología de ELA.</i> Extensión completa de las patas traseras desde la línea central lateral cuando el ratón se suspende por su cola, y el ratón puede soportarlo durante 2 segundos, suspendido 2-3 veces.
1	<i>Sintomatología inicial pre-ELA.</i> Colapso o colapso parcial de la extensión de la pata hacia la línea central lateral (debilidad) o temblor de las patas traseras durante la suspensión de la cola.
2	<i>Enfermedad neurológica definitiva.</i> Los dedos se curvan al menos dos veces durante la deambulación sobre 2 longitudes de toallitas de papel ($\approx$ 12 pulgadas (30,5 cm)) o cualquier parte del pie se arrastra a lo largo del fondo/tabla de la jaula.
3	<i>Enfermedad avanzada.</i> Parálisis rígida o mínimo movimiento de la articulación, el pie no se usa para el movimiento hacia adelante.
4	<i>Estadio final.</i> El ratón no se puede enderezar en un plazo de 30 segundos desde ninguno de los lados.

La fecha de la enfermedad neurológica definitiva fue el día en el que el ratón tuvo por primera vez una puntuación de "2" en la Puntuación neurológica. Tras alcanzar una Puntuación neurológica de "4", los ratones se sometieron a eutanasia y se registró la fecha de la muerte.

La sulfasalazina no tuvo ningún efecto estadístico sobre el tiempo de inicio de la enfermedad. El tratamiento con sulfasalazina aumentó la supervivencia media absoluta de los ratones SOD1 en 3,5 días, con un valor p de $p=0,07$ usando la relación probabilidad de riesgo proporcional de Cox (Fig. 1). Aunque el efecto de la sulfasalazina sobre la supervivencia absoluta es bajo, es un 68 % mayor que el riluzol, la única terapia autorizada para la ELA, que se estudió en el mismo modelo SOD1 en condiciones similares (sulfasalazina, 2,7 % de aumento absoluto de la vida vs. riluzol, 1,6 % de aumento absoluto de la vida; véase por ejemplo Lincecum et al., Supplementary Material, Nat. Genetics 42: 392-411 (2010)).

La sulfasalazina tuvo un efecto mucho más intenso sobre la supervivencia después del inicio de la enfermedad neurológica definitiva. La supervivencia después del inicio de la enfermedad neurológica definitiva se define como el número total de días que el ratón vive después de llegar a la enfermedad neurológica definitiva (Puntuación neurológica de 2) y antes de su muerte (Puntuación neurológica de 4). La supervivencia después del inicio de la enfermedad neurológica definitiva se analizó de dos formas. El primer análisis utilizó las edades medias del inicio de la enfermedad definitiva y de la muerte para calcular la duración media de la vida de los ratones SOD1 tras el inicio de la enfermedad, con y sin el tratamiento con sulfasalazina. La duración media de la vida de los ratones SOD1 tras el inicio de la enfermedad neurológica definitiva se muestra en la Tabla 3. En la Fig. 2 se muestra un gráfico de histograma de los ratones SOD1 tratados con vehículo y con sulfasalazina después del inicio de la enfermedad neurológica definitiva. Estos análisis mostraron que los ratones tratados con sulfasalazina vivieron, en promedio, un 39 % más que los ratones tratados con vehículo después del inicio de la enfermedad neurológica definitiva ($p=0.02$, prueba de la t con corrección de Welch para varianzas desiguales). El intervalo de confianza del 95 % estuvo comprendido para un aumento de la duración de la vida del 21 % al 52 %, en comparación con los ratones sin tratar.

Tabla 3: Duración media de la vida después del inicio de la enfermedad neurológica definitiva.

Grupo	Día medio de la enfermedad neurológica definitiva	Día medio de la muerte	Días totales de supervivencia después del inicio de la enfermedad definitiva	Nivel de confianza menor del 95 %	Nivel de confianza mayor del 95 %
Vehículo	116,4	128,9	12,5	10,73	14,27
Sulfasalazina	115,2	132,6	17,4	12,94	21,73

(continuación)

Grupo	Día medio de la enfermedad neurológica definitiva	Día medio de la muerte	Días totales de supervivencia después del inicio de la enfermedad definitiva	Nivel de confianza menor del 95 %	Nivel de confianza mayor del 95 %
Cambio absoluto	-1,2	3,7	4,9	2,21	7,46
Cambio porcentual	-1,0 %	2,9	39,2	20,6 %	52,3 %
valor p	p = 0,64	p = 0,12	p = 0,02		

El segundo método utilizado para analizar los datos de supervivencia fue comparar el número de días esperados y observados que los ratones tratados con sulfasalazina asaron en una de las 3 categorías de la enfermedad para determinar si hubo alguna diferencia significativa entre los valores esperados y los observados. El primer día en que se determinó una puntuación neurológica fue el día 50 de edad; las mediciones se recogieron después diariamente hasta la muerte.

Las tres categorías fueron: (1) días pasados antes de la enfermedad neurológica definitiva, por ejemplo con una puntuación neurológica de 0 o 1; (2) días pasados durante la enfermedad neurológica definitiva, por ejemplo con una puntuación neurológica de 2 o 3; y (3) días en la muerte, por ejemplo con una puntuación neurológica de 4. Por definición, los ratones solo estuvieron en el estado de muerte durante 1 día, ya que se sometieron a eutanasia tras alcanzar una puntuación neurológica de 4; esta categoría se incluyó como control positivo para garantizar la integridad de los datos y de su análisis.

La distribución esperada de días que los ratones tratados con sulfasalazina pasaron en cada una de estas tres categorías de enfermedad se calculó a partir de la distribución observada de los ratones tratados con vehículo, con la hipótesis nula de que el tratamiento con sulfasalazina no tuvo efecto sobre la distribución. La distribución observada de los ratones tratados con sulfasalazina se basó en la puntuación diaria y se normalizó al número de ratones en los grupos.

Los resultados de este análisis se muestran en la Tabla 4. Los ratones tratados con sulfasalazina, como grupo, sobrevivieron un total de 112 días más de lo esperado tras el inicio de la enfermedad neurológica definitiva (puntuación neurológica de 2 o 3). Este resultado fue muy significativo según el análisis de Chi cuadrada, con un valor p de menos de 0,0004 según la prueba de Wald y de 0,0003 según la prueba de relación de probabilidad. No hubo diferencias significativas en el número de días pasados en el estado anterior a la enfermedad (puntuación neurológica de 0 o 1) o muerte (puntuación neurológica de 4).

Tabla 4: Distribución esperada y observada de puntuaciones neurológicas de sulfasalazina y valores p calculados.

Medición	Categoría de enfermedad	Vehículo	Días esperados, Sulfasalazina ¹	Días observados, Sulfasalazina	Días observados menos días esperados	Efecto (prueba de Wald) ² Prob>ChiSq	Efecto (prueba de relación de probabilidad) ² Prob>ChiSq
Días totales	Antes del inicio de la enfermedad definitiva (puntuación neurológica = 0 o 1)	2041	1722	1708	-14	0,0004	0,0003
	Enfermedad neurológica definitiva (puntuación neurológica = 2 o 3)	357	301	413	112		
	Muerte (puntuación neurológica = 4)	32	27	27	0		
	Observaciones totales (Días)	2430	2050	2148	98		

¹ Días esperados para los animales tratados con sulfasalazina si sulfasalazina no tiene efecto sobre la enfermedad; valores previstos a partir de la cohorte tratada con vehículo y normalizada para el número de animales en la cohorte tratada.

² Prob>ChiSq es la probabilidad de obtener un valor Chi cuadrado por casualidad solamente si el tratamiento no tuviera efecto sobre el tiempo pasado en cada categoría de enfermedad. Todas las estadísticas se realizaron con el programa estadístico JMP10 (SAS Institute).

La mayor duración de la vida tras el inicio de la enfermedad neurológica definitiva observado con la sulfasalazina también se comparó con los resultados publicados con otros compuestos estudiados en el modelo del ratón SOD1. La Fig. 3 muestra la diferencia porcentual en la supervivencia tras el inicio de la enfermedad neurológica para sulfasalazina, dos compuestos antiinflamatorios generales (ibuprofeno y MR1, un anticuerpo dirigido contra CD40L) y riluzol, el único fármaco aprobado actualmente para la ELA. Sulfasalazina aumentó la duración de la vida en un 39 %, el anticuerpo dirigido contra CD40L aumentó la duración de la vida en un 9 %, riluzol aumentó la duración de la vida en un 1 % y el ibuprofeno disminuyó la duración de la vida tras el inicio de la enfermedad neurológica en un 10 %. Véase, por ejemplo, Shin et al., J. Neurochem. 122: 952-961 (2012); Lincecum et al., Nat. Genetics 42: 392-411 (2010).

Esta comparación ilustra que el aumento en la duración de la vida observado con sulfasalazina es significativamente mayor que el observado con otros compuestos analizados, incluidos dos compuestos antiinflamatorios generales (ibuprofeno y un anticuerpo dirigido contra CD40L) y la única terapia autorizada para la ELA (riluzol).

Los experimentos en el modelo animal SOD1 de la ELA también demostraron que, aunque el efecto de la sulfasalazina sobre la supervivencia absoluta es bajo, era superior al riluzol, la única terapia autorizada para la ELA. Es importante destacar que el beneficio de la supervivencia de sulfasalazina tras el inicio de la enfermedad neurológica definitiva es importante, en términos de tamaño absoluto (aproximadamente un 40 %), la significación estadística y cuando se comparó con otros compuestos, incluido el riluzol. Es de destacar que el aumento de supervivencia total observado en el análisis de supervivencia absoluta (mediana, 3,7 días) se produce tras el inicio definitivo de la enfermedad neurológica. Este resultado es coherente con los datos de expresión (Fig. 6, a continuación) que muestra que la expresión de xCT asciende con la progresión de la enfermedad. Basándose en el perfil de expresión de la diana, se espera que la sulfasalazina tenga poco efecto sobre el retraso del inicio de la enfermedad, pero tendría un efecto beneficioso progresivo a medida que la enfermedad progresa, como se observó en el estudio de supervivencia.

Estos experimentos demostraron que la sulfasalazina tubo una baja eficacia sobre la supervivencia absoluta y una intensa eficacia sobre la supervivencia tras el inicio de la enfermedad neurológica definitiva en el modelo de ratón SOD1 de la ELA. Como la mayoría de los pacientes de ELA no comienzan la terapia hasta después del diagnóstico de la enfermedad neurológica, esta última medición es especialmente pertinente para el tratamiento de la enfermedad humana.

Ejemplo 2 (Referencia)

La expresión de xCT (SLC7A11) está elevada en la médula espinal de ratones SOD1

Los siguientes estudios usaron inmunohistoquímica cuantitativa para determinar: (1) si la expresión de xCT en la médula espinal estaba elevada en los ratones SOD1, (2) si lo anterior es cierto, si la expresión en exceso de xCT aumentó con la progresión de la enfermedad, y (3) si el tratamiento con sulfasalazina afectó la expresión de xCT en la médula espinal de los ratones SOD1.

Para este análisis se seleccionaron dos edades de ratones: día 85, cuando los ratones SOD1 no mostraban signos evidentes de sintomatología de tipo ELA, y el día 100, cuando los ratones SOD1 normalmente empezaban a mostrar los primeros signos de sintomatología de tipo ELA, tal como el colapso parcial de la extensión de la pata hacia la línea central lateral (debilidad) o temblor de las patas traseras durante un ensayo de suspensión por la cola. Para los estudios inmunohistoquímicos, un total de 48 ratones se dividieron en 6 cohortes de 8 ratones cada una (4 hembras y 4 machos), como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5: Cohortes utilizadas en los estudios inmunohistoquímicos

Cohorte (n=8)	Genotipo	Tratamiento	Edad del ratón en el sacrificio
1	Tipo silvestre	vehículo	85 días
2	SOD1	vehículo	85 días
3	SOD1	sulfasalazina	85 días
4	Tipo silvestre	vehículo	100 días
5	SOD1	vehículo	100 días
6	SOD1	sulfasalazina	100 días

A partir de una edad de 50 días, los ratones recibieron sulfasalazina o solución salina dos veces al día (con separación de 8 horas), 7 días a la semana a una dosis de 200 mg/kg. La sulfasalazina se preparó pesando 100 mg del compuesto en un tubo corning de 50 ml. Se añadieron 5 ml de NaOH 0,1 N y el tubo se sonicó suavemente. A continuación se añadieron 140 µl de HCl 1 N para llevar el pH hasta 8,00. La solución resultante de 20 mg/ml se suministró mediante inyección intraperitoneal a 10 ml/kg. Los ratones tratados con vehículo recibieron solución salina.

Los ratones se sacrificaron mediante asfixia con CO₂ de acuerdo con los protocolos aprobados por la IACUC. La médula espinal se extruyó sobre PBS frío en un baño de PBS frío desde la columna vertebral de los ratones usando una aguja de calibre 18 introducida en la columna vertebral sacra en un ajuste de fricción. Tras la extrusión, el tejido de la médula espinal se enjuagó y se hizo gotear en paraformaldehído al 4 % durante 24 horas a temperatura ambiente (TA, aproximadamente 25 °C). A continuación, el tejido se transfirió a una solución de solución salina tamponada con fosfato (PBS) 1x. Después, las muestras se procesaron en procesadores TissueTek para su inclusión en parafina. A continuación, las muestras de médula espinal se incluyeron en bloques de parafina y se orientaron para seccionamiento transversal. Las muestras de médula espinal, se seccionaron con 10 micrómetros de espesor. Se cortaron tres secciones representativas de las regiones lumbar, torácica y cervical de la médula espinal. Las muestras se pretrataron con Pronase durante 20 minutos a TA, seguido de tratamiento con % H₂O₂ al 3 % durante 12 minutos a TA. Se añadió suero de caballo al 2 % y las muestras se incubaron durante 20 minutos a TA. A continuación, las muestras se incubaron con el anticuerpo primario (Anti-xCT; adquirido de Abcam (Cambridge, MA); n.º de catálogo Ab37185; diluido 1:500 en PBS) durante una noche a 4 °C. El anticuerpo secundario (anticuerpo de cabra dirigido contra IgG de conejo marcado con biotina; dilución 1:500 en PBS) se añadió a continuación, y la reacción se incubó durante una noche a TA. Los productos de reacción se revelaron con el sistema Vector ABC (Vector Labs, Burlingame, CA) usando peroxidasa de rábano picante conjugada con avidina. La expresión de xCT se visualizó mediante la adición del sustrato cromogénico DAB (3,3'-diaminobenzidina) durante 10 minutos a TA. Se obtuvieron imágenes de cada sección teñida con los objetivos: 4x, 10x, 20x y 40x. Para cada imagen de objetivo, los parámetros de luz se optimizaron y se mantuvieron consistentes para todas las secciones. Para el análisis de SLC7A11, todas las imágenes capturadas a 20x se importaron a continuación en un programa informático de código abierto ImageJ (NIH, Bethesda, MD). Se aplicó un algoritmo de máxima entropía umbral a todas las imágenes de una forma completamente enmascarada para filtrar todos los píxeles no teñidos como DAB positivo. El parámetro clave medido y notificado es la fracción de área. La fracción de área es la proporción de píxeles totales que son DAB positivos en el cuerno ventral de la espina dorsal. Todos los análisis estadísticos se realizaron usando JMP® 7.0, SAS Institute, Inc. Las fracciones de área se compararon con respecto al tratamiento usando análisis ANOVA monolateral, con un valor p de 0,05 considerado significativo.

La Fig. 4 muestra imágenes representativas de los ratones del día 100. La mayor expresión de xCT es visible en las secciones de los ratones SOD1, con y sin el tratamiento con sulfasalazina.

La Fig. 5 muestra la cuantificación de la fracción de xCT para las regiones cervical y lumbar de la médula espinal de ratones en el día 85 y en el día 100. El día 85, los niveles de la proteína xCT estaban elevadas en ambas regiones cervical y lumbar en los ratones SOD1, alcanzando significación estadística ($p < 0,05$) en la región lumbar (Fig. 5, panel B). El día 100, los niveles de la proteína xCT estaban elevadas en ambas regiones cervical y lumbar en los ratones SOD1, alcanzando significación estadística ($p < 0,05$) en ambas regiones (Fig. 5, paneles C y D).

La Fig. 6 compara los niveles de expresión de xCT totales en el cuerno ventral de la espina dorsal en ratones del día 85 y el día 100. Para este análisis, los valores de las regiones cervical, torácica y lumbar combinaron en un valor único. En los ratones SOD1 del día 85, los niveles de proteína xCT estaban elevados en aproximadamente un 50 % en las secciones de médula espinal combinadas, en comparación con los ratones silvestres del día 85. En los ratones SOD1 del día 100, los niveles de proteína xCT estaban elevados en aproximadamente un 300 % en todas las secciones de médula espinal combinadas, en comparación con los ratones silvestres del día 100.

Estos resultados demuestran que (1) la expresión de la diana xCT está elevada en el tejido enfermo -la parte ventral de la médula espinal- de los ratones SOD1; (2) la expresión de xCT se eleva significativamente durante la progresión de la enfermedad en los ratones SOD1 (día 85 versus día 100, Fig. 6), y (3) el tratamiento con sulfasalazina no tuvo un efecto significativo sobre la expresión de xCT (Fig. 5, Paneles A-D). Por lo tanto, parece que no hay un efecto de compensación o rebote sobre los niveles de xCT cuando esta se inhibe mediante sulfasalazina. Dicho efecto rebote podría llevar a la pérdida de eficacia durante el tratamiento.

El aumento en la expresión de xCT observado durante la progresión de la enfermedad es consistente con que sulfasalazina tenga mayor eficacia durante los estadios finales de la enfermedad.

Ejemplo 3 (Referencia)

Sulfasalazina reduce los niveles de células neuroinflamatorias en la médula espinal de ratones SOD1

Los siguientes experimentos usaron inmunohistoquímica cuantitativa para: (1) comparar las poblaciones de células neuroinflamatorias en la médula espinal de los ratones SOD1 con las poblaciones de células en ratones de tipo silvestre, y (2) analizar si el tratamiento con sulfasalazina disminuye las poblaciones de células neuroinflamatorias en la médula espinal de los ratones SOD1.

Los mismos ratones de ensayo, preparaciones de médula espinal y métodos de análisis usados en el estudio neuroinflamatorio fueron idénticos a los utilizados en los estudios de cuantificación de la xCT. Se cuantificaron dos poblaciones de células neuroinflamatorias: (1) células microgliales activadas usando un anticuerpo contra el antígeno F4/80, y (2) astrocitos activados, usando un anticuerpo contra el antígeno GFAP. Para cada imagen de objetivo, los

parámetros de luz se optimizaron y se mantuvieron consistentes para todas las secciones. las imágenes capturadas a 20x se importaron a continuación en un programa informático de código abierto ImageJ (NIH, Bethesda, MD). Se aplicó un algoritmo de máxima entropía umbral a todas las imágenes de una forma completamente enmascarada para filtrar todos los píxeles no teñidos como DAB positivo. Las imágenes 20x se analizaron de forma enmascarada y se tabuló la fracción de área media ocupada por la tinción. Los niveles de neuroinflamación en la médula espinal se evaluaron por medición de la fracción de área del área del cuerno ventral en la médula espinal ocupada por astrocitos o microglía activados. La fracción de área se comparó con respecto al tratamiento usando análisis ANOVA monolateral, con un valor p de 0,05 considerado significativo.

Para la cuantificación de la activación microglial, las muestras se pretrataron con Pronase durante 20 minutos a temperatura ambiente, seguido de tratamiento con H₂O₂ al 3 % durante 12 minutos a temperatura ambiente (25 °C). Se añadió suero de cabra al 2 % y las muestras se incubaron durante 20 minutos a TA. A continuación, las muestras se incubaron con el anticuerpo primario (Anti-F4/80) adquirido de Serotec (n.º de catálogo MCA497R; Oxford, Reino Unido) diluido 1:250 en PBS durante una noche a 4 °C. El anticuerpo secundario (anticuerpo de cabra dirigido contra IgG de conejo marcado con biotina; dilución 1:250 en PBS) se añadió a continuación, y la reacción se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Los productos de reacción se revelaron con el sistema Vector ABC (Vector Labs, Burlingame, CA) usando peroxidasa de rábano picante conjugada con avidina (45 minutos a temperatura ambiente). La microglía activada se visualizó mediante la adición del sustrato cromogénico DAB (3,3'-diaminobenzidina) durante 6 minutos a temperatura ambiente.

Para la cuantificación de la activación de los astrocitos, las muestras se pretrataron con tampón citrato caliente durante 20 minutos, seguido de tratamiento con H₂O₂ al 3 % durante 12 minutos a temperatura ambiente. Se añadió suero de caballo al 2 % y las muestras se incubaron durante 20 minutos a temperatura ambiente. A continuación, las muestras se incubaron con el anticuerpo primario (Anti-GFAP) adquirido de Abcam (n.º de catálogo Ab10062; Cambridge, MA), diluido 1:1000 en PBS durante una noche a 4 °C. Los productos de reacción se revelaron usando el sistema Vector ImmPress (Vector Labs, Burlingame, CA) usando un anticuerpo dirigido contra IgG de ratón conjugado con peroxidasa de rábano picante. Los astrocitos activados se visualizaron mediante la adición del sustrato cromogénico DAB (3,3'-diaminobenzidina) durante 90 segundos a temperatura ambiente.

La Fig. 7 muestra imágenes representativas del tejido de ratones del día 85 teñido para observar la microglía activada. La Fig. 8 muestra imágenes representativas del tejido de ratones del día 100 teñido para observar los astrocitos activados.

La Fig. 9 muestra la cuantificación por fracciones de área de los astrocitos y células gliales activadas en las regiones cervical y lumbar del cuerno ventral en la médula espinal de ratones del día 85. Se observó una fuerte tendencia hacia la activación de los astrocitos en los ratones enfermos (SOD1) en comparación con los ratones no enfermos (WT) en la región lumbar (FIG 9, Panel B). El tratamiento con sulfasalazina disminuyó significativamente la activación de los astrocitos en la región lumbar (Fig. 9, Panel B). La activación de los astrocitos no estaba elevada en la región cervical de los ratones SOD1 vs. ratones WT (Fig. 9, Panel A).

En los ratones del día 85, se observó un aumento en la activación de la microglía en ratones enfermos (SOD1) en comparación con los ratones sin enfermedad (WT) tanto en la región cervical (Fig. 9, Panel C) como en la región lumbar (Fig. 9, Panel D), aunque la activación en la región lumbar no alcanzó significación estadística. El tratamiento con sulfasalazina disminuyó significativamente la activación microglial en la región cervical de los ratones SOD1 (Fig. 9, Panel C) y también redujo la activación microglial en la región lumbar de los ratones SOD1, aunque este efecto no alcanzó significación estadística.

Estos resultados demuestran que, en los ratones SOD1 del día 85: (1) están presentes niveles aumentados de células neuroinflamatorias (astrocitos y microglía activados) en la médula espinal, antes de observar sintomatología de tipo ELA, y (2) el tratamiento con sulfasalazina disminuye los niveles globales de células neuroinflamatorias (astrocitos y/o microglía activados) tanto en la región cervical como en la región lumbar de la médula espinal.

La Fig. 10 muestra la cuantificación por fracciones de área de los astrocitos y células gliales activadas en las regiones cervical y lumbar del cuerno ventral en la médula espinal de ratones del día 100. Se observó una activación de astrocitos significativamente aumentada en los ratones enfermos (SOD1) en comparación con los ratones no enfermos (WT) en la región cervical (Fig. 10, Panel A). El tratamiento con sulfasalazina disminuyó significativamente la activación de los astrocitos en la región cervical (Fig. 10, Panel A). En la región lumbar, se observó una tendencia hacia un aumento en la activación de astrocitos en la región lumbar, aunque esto no fue estadísticamente significativo. El tratamiento con sulfasalazina no alteró la activación de los astrocitos en la región lumbar (Panel B).

El día 100, se observó un aumento en la activación de la microglía en ratones enfermos (SOD1) en comparación con los ratones sin enfermedad (WT) en la región cervical (Fig. 10, Panel C) y en la región lumbar (Fig. 10, Panel D), aunque la activación en la región lumbar no alcanzó significación estadística. El tratamiento con sulfasalazina dio como resultado una tendencia hacia la activación microglial en la región cervical (Fig. 10, Panel C) y no alteró dicha activación en la región lumbar (Fig. 10, Panel D).

Estos resultados demuestran que, en los ratones SOD1 del día 100: (1) están presentes niveles aumentados de células neuroinflamatorias (astrocitos y microglía activados) en la médula espinal, en particular en la región cervical, y (2) el tratamiento con sulfasalazina disminuye los niveles globales de células neuroinflamatorias en la región cervical de la médula espinal.

La Tabla 6 contiene un resumen de todos los datos del experimento de neuroinflamación presentados en forma tabular. Los cambios en la tinción de la fracción de área en las regiones cervical, torácica y lumbar de la médula espinal, así como los cambios combinados para la totalidad de la médula espinal (suma de las regiones cervical, torácica y lumbar) se puntuaron para las siguientes comparaciones entre grupos:

- (1) Si el aumento en la activación de la microglía y los astrocitos se observó en ratones enfermos (SOD1, tratados con vehículo) vs. ratones sin enfermedad (tipo natural) (Columna 4). En un total de 16 mediciones, se observó evidencia de activación de astrocitos y/o microglial en 14 veces, alcanzando significación estadística 5 veces; y
(2) Si el tratamiento con sulfasalazina disminuyó la activación de la microglía y los astrocitos en comparación con los ratones SOD1 tratados con vehículo (Columna 5). Del total de 14 tejidos que mostraron activación de los astrocitos y/o microglía en ratones SOD1, se observó que el tratamiento con sulfasalazina disminuía la activación 8 veces, alcanzando significación estadística 4 veces.

Tabla 6: Resumen de los datos de neuroinflamación

Tejido	Día	Tipo de célula	Columna 4: Aumento de activación en ratones SOD1 (vehículo) vs. ratones WT	Columna 5: Disminución de la activación en ratones SOD1 tratados con sulfasalazina vs. ratones SOD1 tratados con vehículo
Cervical	85	Astrocitos	Sin aumento	Sin disminución
Cervical	100	Astrocitos	Fuerte incremento ($p < 0,001$)	Fuerte disminución ($p < 0,01$)
Torácico	85	Astrocitos	Tendencia	Tendencia
Torácico	100	Astrocitos	Tendencia	Sin disminución
Lumbar	85	Astrocitos	Tendencia	Disminución ($p < 0,05$)
Lumbar	100	Astrocitos	Tendencia	Sin disminución
Combinado	85	Astrocitos	Tendencia	Disminución ($p < 0,05$)
Combinado	100	Astrocitos	Tendencia	Tendencia
Cervical	85	Microglía	Aumento ($p < 0,05$)	Fuerte disminución ($p < 0,01$)
Cervical	100	Microglía	Aumento ($p < 0,05$)	Tendencia
Torácico	85	Microglía	Sin aumento	Sin disminución
Torácico	100	Microglía	Tendencia	Sin disminución
Lumbar	85	Microglía	Tendencia	Tendencia
Lumbar	100	Microglía	Tendencia	Sin disminución
Combinado	85	Microglía	Aumento ($p < 0,05$)	Tendencia
Combinado	100	Microglía	Aumento ($p < 0,05$)	Sin disminución

- Este experimento establece que el tratamiento con sulfasalazina disminuye los niveles tanto de células microgliales activadas como de astrocitos activados en la médula espinal.

Los resultados del estudio neuroinflamatorio sugieren que la actividad de xCT es necesaria para que se produzcan los niveles máximos de neuroinflamación.

Ejemplo 4 (Referencia)

Sulfasalazina alcanza concentraciones terapéuticas en la médula espinal y los niveles en la médula espinal son proporcionales a las concentraciones en plasma

Los procedimientos experimentales y los resultados que se proporcionan a continuación demuestran la exposición y farmacocinética de la sulfasalazina en la médula espinal y el plasma de ratones SOD1e. Protocolo del estudio y análisis de las muestras

Los ratones SOD1 recibieron dosis de sulfasalazina a 200 mg/kg por vía intraperitoneal y la médula espinal y el plasma

(50 µl) se recogieron en los tiempos indicados (n=3 ratones por punto temporal). El punto temporal cero se tomó antes de administrar el fármaco para servir como control negativo para la cuantificación del fármaco. Los métodos analíticos fueron desarrollados y realizados por MicroConstants (San Diego, CA). Las muestras de médula espinal y plasma sanguíneo (50 µl) se homogeneizaron en 150 µl de tampón fosfato, y después se extrajeron con una mezcla de cloruro de metileno y MTBE (dilución 1:4). Los extractos de las muestras se analizaron y se cuantificaron mediante cromatografía líquida de alta resolución usando una columna BetaMax Acid mantenida a 35 °C. La fase móvil se nebulizó usando nitrógeno calentado en una fuente de pulverización Z/interfase y las composiciones ionizadas se detectaron y se identificaron usando un espectrómetro de masas de tipo cuadrupolo en tandem (EM/EM). Cualificación del método analítico

Un patrón de referencia de sulfasalazina (Sigma-Aldrich, n.º de catálogo S0883) se usó para generar una curva patrón en plasma de rata. El ensayo proporcionó una respuesta lineal a concentraciones de sulfasalazina de 10 a 20.000 ng/ml (Tabla 7). Los controles de dilución mostraron que las muestras se podían diluir hasta 1:100 y proporcionar una respuesta lineal en el ensayo. La curva de ajuste a dichos datos generaron los siguientes parámetros de la ecuación utilizada para calcular concentraciones desconocidas:

Ecuación general: $\text{LOG}(y) = A + B \cdot \text{LOG}(x)$ donde y = relación de altura de pico y x = concentración

Parámetros específicos de la sulfasalazina: A= 3,06, B = 0,976; Coeficiente de correlación = 1,00

Tabla 7. Valores de la curva patrón para sulfasalazina.

Analito	Concentraciones normalizadas (ng/ml)											
	10	20	50	100	250	500	1.000	2.000	5.000	10.000	20.000	
Sulfasalazina (medido)	9,80	18,5	46,4	109	255	519	1.100	2.150	5.360	10.200	17.800	18.100
Media (ng/ml)	9,84	18,5	46,4	109	255	519	1.100	2.150	5.360	10.200	18.000	
Porcentaje de la desviación estándar	-1,60	-7,50	-7,20	9,00	2,00	3,80	10,0	7,50	7,20	2,00	-10,0	

Por separado, un patrón interno (sulfasalazina deuterada) se usó para determinar la eficacia de extracción del compuesto desde el tejido del SNC (cerebro) y plasma de ratón. Se determinó que la eficacia de extracción de la sulfasalazina era >98 % del tejido de cerebro y plasma de ratón.

- 5 La Tabla 8 muestra los valores medios de las concentraciones de sulfasalazina en la médula espinal y en el plasma, y también las desviaciones estándar (SD) de las mediciones y la relación entre la sulfasalazina en la médula espinal y en el plasma.

10 Tabla 8. Concentraciones medias de sulfasalazina en el SNC (médula espinal) y plasma, desviaciones estándar (SD) y relaciones entre el SNC (médula espinal) y el plasma. BQL= por debajo del límite de detección cuantitativo (10 ng/ml)

Tiempo (min)	Médula espinal, media (ng/g)	Médula espinal, SD (ng/g)	Plasma, media (ng/ml)	Plasma, SD (ng/ml)	Relación (médula espinal/plasma)
0	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL
5	17.719	8.081	77.629	6.815	23 %
15	10.419	2.479	67.143	3.672	16 %
30	10.213	2.257	60.235	2.731	17 %
45	7.065	1.312	54.687	1.762	13 %
60	3.276	612	40.354	5.198	8 %
120	991	457	19.234	3.279	5 %
180	653	119	6.090	994	11 %
240	20	18	2.580	622	1 %
360	BQL	BQL	630	121	n/a

- La Fig. 11 muestra la concentración logarítmica media de sulfasalazina en la médula espinal frente al tiempo después de la administración. Sulfasalazina mostró penetración inmediata en la médula espinal, alcanzando niveles de aproximadamente 18 µg/gramo de tejido a los 5 minutos de la administración del fármaco. Los niveles en la médula espinal estuvieron comprendidos en aproximadamente un 5-17 % de los niveles en el plasma durante las siguientes tres horas. El intervalo terapéutico mínimo de la sulfasalazina, estimado como 2 a 2,5 micromolar (equivalente a 800-1.000 ng/ml; suponiendo una conversión de 1 gramo de tejido = 1 ml de volumen), se muestra en el rectángulo sombreado de la figura. Estos resultados muestran que la sulfasalazina alcanzó niveles inmediatos y terapéuticos en la médula espinal de ratón. La semivida de la sulfasalazina en la médula espinal y en el plasma fue de aproximadamente una hora, siendo los niveles de la médula espinal proporcionales a los niveles plasmáticos. La semivida observada en la médula espinal y en el plasma es consistente con la semivida de la sulfasalazina notificada en plasma de ratón, véase, por ejemplo, Zaher et al., Mol. Pharmaceutics 3: 55-61 (2005). Las concentraciones terapéuticamente relevantes de sulfasalazina estuvieron presentes en la médula espinal durante aproximadamente 2-2,5 horas, que corresponde a una concentración de sulfasalazina en el SNC de aproximadamente 800-1000 ng/g. Las correspondientes concentraciones de sulfasalazina en plasma durante este periodo de tiempo estuvieron comprendidas en aproximadamente 8.000-19.000 ng/ml.

- Los resultados de los experimentos con SOD1 proporcionan fuerte respaldo de que la sulfasalazina tienen aplicaciones terapéuticas para la ELA, a pesar de la corta semivida de la sulfasalazina y la cobertura del fármaco resultante menor que la óptima en estos estudios particulares. Los niveles de la diana -xCT- estuvieron elevados en el tejido enfermo y aumentaron con el avance de la enfermedad. El tratamiento con sulfasalazina demostró eficacia significativa en dos importantes componentes de la enfermedad: (1) supervivencia tras el inicio de la enfermedad neurológica y, (2) atenuación de la neuroinflamación.

35 Ejemplo 5 (Referencia)

Determinación de la solubilidad del compuesto cristalino a diferentes pH

- 40 Se usó el siguiente procedimiento para determinar el efecto del pH sobre la solubilidad de la sulfasalazina en soluciones acuosas. Una muestra de 1,8 mg de sulfasalazina se introdujo en un tubo de microcentrifuga. A continuación se añadieron al tubo 0,9 ml de HCl 0,01 N, que se tapó y se mezcló con un vortizador durante 1 minuto. La muestra del tubo se centrifugó a continuación a 15.800 de fuerza centrífuga relativa (RCF) durante 1 minuto. Una muestra de 50 µl del líquido se diluyó en 250 µl de disolvente de HPLC, y el tubo se tapó y se sometió a vortización durante 20 segundos y se dejó reposar sin perturbación a 37 °C hasta recoger la siguiente muestra. Después de 30 minutos, una porción de 0,9 ml de solución tampón (a dos veces la concentración de las sales del tampón) se añadió

al tubo de microcentrífuga, y el procedimiento se repitió tal como se ha descrito anteriormente. Las muestras se recogieron en intervalo de tiempo predeterminados y se analizaron por HPLC. A continuación se determinó la solubilidad de la sulfasalazina en función del pH, tal como se muestra en la Fig. 12. Estos datos indican que el fármaco cristalino en solitario puede tener buena biodisponibilidad según la solubilidad si el pH de la ventana de absorción es elevado (pH 6 o superior). Estos datos indican también que el fármaco cristalino en solitario puede tener baja biodisponibilidad según la solubilidad si el pH de la ventana de absorción es bajo (menor de pH 6).

Ejemplo 6

10 Reformulación de la sulfasalazina para aumentar la biodisponibilidad oral

Se prepararon novedosas formulaciones de sulfasalazina que aumenten la solubilidad de la sulfasalazina a pH entérico (es decir, por debajo de pH 6), incluida una formulación de sulfasalazina que aumenta la biodisponibilidad oral de la sulfasalazina en al menos tres veces en un modelo de rata.

15 Preparación de formulaciones de sulfasalazina

Formulación de sulfasalazina ilustrativa 1: 25% Sulfasalazina:75% HPMCAS SDD (Ejemplo comparativo)

20 Una dispersión secada por pulverización (SDD) de 25 % en peso de sulfasalazina y 75 % en peso de HPMCAS (a partir de ahora en el presente documento "25 % sulfasalazina:HPMCAS") se preparó usando un proceso de secado por pulverización de la siguiente forma. Se preparó una solución de pulverización disolviendo 100 mg de sulfasalazina y 300 mg de HPMCAS (acetatosuccinato de hidroxipropilmetilcelulosa; AQOAT calidad M, Shin Etsu, Tokio, Japón) en 19,6 g de disolvente (tetrahidrofurano/agua 95/5 p/p), para formar una solución de pulverización que contenía un 2 % en peso de sólidos. Esta solución se secó mediante pulverización usando un secador por pulverización a pequeña escala, que consistía en un atomizador en el tapón superior de una tubería de acero inoxidable de 11 cm de diámetro orientada verticalmente. El atomizador era una boquilla de dos fluidos, donde el gas de atomización se suministró mediante nitrógeno a la boquilla a 70 °C a un caudal de 31 litros estándar/min (SLPM), y la solución a secar por pulverización se suministró a la boquilla a temperatura ambiente a un caudal de 1.3 ml/min usando una bomba de jeringa. La temperatura de salida del gas de secado y el disolvente evaporado fue de 31,5 °C. Un papel de filtro con una malla de soporte se pinzó en la parte inferior de la tubería para recoger el material sólido secado por pulverización y dejar que el nitrógeno y el disolvente evaporado escaparan. El polvo secado mediante pulverización resultante se secó al vacío durante una noche, con un rendimiento del 89 %.

35 Formulación de sulfasalazina ilustrativa 2: 25% Sulfasalazina:75% PVP VA64 SDD

Una dispersión secada por pulverización (SDD) de 25 % en peso de sulfasalazina y 75 % en peso de PVP VA64 (a partir de ahora en el presente documento "25 % sulfasalazina:PVP VA64") se preparó usando un proceso de secado por pulverización de la siguiente forma. Se repitió el procedimiento de la Formulación de sulfasalazina ilustrativa 1 se repitió salvo que el polímero fue copolímero de vinilpirrolidona-acetato de vinilo (PVP VA64, adquirido de BASF como Kollidon® VA 64, Ludwigshafen, Alemania). Las condiciones del secado por pulverización fueron las mismas que para la Formulación de sulfasalazina ilustrativa 1. El polvo secado mediante pulverización resultante se secó al vacío durante una noche, con un rendimiento del 95,7 %.

45 Formulación de sulfasalazina ilustrativa 3: 50 % Sulfasalazina: 50% PVP VA64 SDD

Una dispersión secada por pulverización (SDD) de 50 % en peso de sulfasalazina y 50 % en peso de PVP VA64 (a partir de ahora en el presente documento "50 % sulfasalazina:PVP VA64") se preparó usando un proceso de secado por pulverización de la siguiente forma. Se preparó una solución de pulverización disolviendo 200 mg de sulfasalazina y 200 mg de PVP VA64 en 19,6 g de disolvente (tetrahidrofurano/agua 90/10 p/p), para formar una solución de pulverización que contenía un 2 % en peso de sólidos. Esta solución se secó mediante pulverización usando un secador por pulverización a pequeña escala, como se describe en la Formulación de sulfasalazina ilustrativa 1. El polvo secado mediante pulverización resultante se secó al vacío durante una noche, con un rendimiento del 95,7 %.

55 Ejemplo 7

Caracterización de las composiciones que muestran dispersión amorfa usando análisis por XRPD

60 Las tres formulaciones ilustrativas se analizaron mediante difracción de rayos X en polvo (XRPD) usando un dispositivo de medición AXS D8 Advance PXRD (Bruker, Inc. de Madison, Wisconsin) usando el siguiente procedimiento. Las muestras (aproximadamente 100 mg) se empaquetaron en copas de muestras Lucite provistas de placas Si(511) como parte inferior de la copa para no dar señal de fondo. Las muestras se hicieron rotar en el plano ϕ a una velocidad de 30 rpm para minimizar los efectos de orientación del cristal. La fuente de rayos X (KCu_{α} , $\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) se hizo funcionar a una tensión de 45 kV y una intensidad de 40 mA. Los datos de cada muestra se recogieron durante un periodo de 30 minutos en modo de barrido continuo del detector a una velocidad de barrido de 2 segundos/paso y un tamaño de paso de 0,04°/paso. Se recogieron los difractogramas en el intervalo 2θ de 4° a 40°. La Fig. 13 muestra el patrón de

difracción de las formulaciones, que revela un halo amorfo, lo que indica que la sulfasalazina de cada una de las formulaciones ilustrativas era esencialmente amorfa.

Ejemplo 8

Caracterización de las composiciones que muestran homogeneidad usando análisis mDSC:

Las formulaciones ilustrativas se analizaron usando calorimetría de barrido diferencial modulada (mDSC) de la siguiente forma. Muestras de las formulaciones (aproximadamente de 2 a 4 mg) se equilibraron a <5% HR durante una noche en una cámara ambiental a temperatura ambiente. Las muestras se cargaron después en cestas y se sellaron dentro de la cámara ambiental. A continuación, las muestras se analizaron en un Q1000 mDSC (TA Instruments, New Castle, Delaware). Las muestras se exploraron para el intervalo de temperatura de -40 °C a 200 °C, a una velocidad de exploración de 2,5 °C/min, y una velocidad de modulación de ± 1.5 °C/min. La temperatura de transición vítrea (Tg) se calculó basándose en la semialtura. Los resultados de mDSC se muestran en la Fig. 14, y el valor Tg también se recoge en la Tabla 9 (los datos se notifican como el promedio de 3 réplicas). En todos los casos, las dispersiones mostraron una única Tg, lo que indica que el principio activo en la dispersión estaba molecularmente disperso y homogéneo en la SDD.

Tabla 9: Temperaturas de transición vítrea de las preparaciones de sulfasalazina

Muestra	Tg a < 5% HR (°C)
Formulación ilustrativa 1 (Comp.) 25% Sulfasalazina:HPMCAS SDD	98,1 $\pm$ 0,3
Formulación ilustrativa 2 25% Sulfasalazina:PVP VA64 SDD	110,5 $\pm$ 0,03
Formulación ilustrativa 3 50 % Sulfasalazina:PVP VA64 SDD	118,0 $\pm$ 0,2

Ejemplo 9

Determinación de la solubilidad de los compuestos reformulados a pH entérico:

La liberación de sulfasalazina desde las dispersiones de las formulaciones ilustrativas 1-3, sulfasalazina cristalina y formulación de sulfasalazina amorfa (preparada mediante secado por pulverización) se determinó usando los siguientes procedimientos. Una masa de muestra de 4,5 mg del material experimental se introdujo en un tubo de microcentrifuga. A esto se añadieron 0,9 ml de solución de tampón gástrico (GB) (HCl 0,01 N, pH 2). Los tubos se vortizaron durante un minuto, después se centrifugaron durante un minuto antes de tomar cada muestra. Las muestras (la fase líquida) se tomaron a los 5, 15, y 25 minutos. 30 minutos después del inicio del ensayo, se añadieron 0,9 ml de solución de tampón intestinal (IB) (un tampón de fosfato/citrato a pH 5,5) a los tubos (al doble de concentración de las sales del tampón para dar como resultado el nivel de pH y fuerza del tampón deseados). Los tubos se vortizaron durante un minuto, después se centrifugaron durante un minuto antes de tomar cada muestra. Se tomaron muestras a 4, 10, 20, 40, 90 y 1200 minutos después de la adición de la solución de tampón intestinal. La concentración de sulfasalazina se determinó mediante HPLC como se ha descrito anteriormente. La Tabla 10 muestra los datos del experimento de solubilidad y la Fig. 15 muestra los datos en forma gráfica. Estos datos demuestran que la preparación de sulfasalazina amorfa tiene mayores que la sulfasalazina cristalina, en aproximadamente un 36%. Cuando la sulfasalazina amorfa se preparó con polímeros, la solubilidad aumentó adicionalmente. La formulación 25% sulfasalazina:HPMCAS-MG tuvo un aumento de solubilidad de aproximadamente un 200% en comparación con la sulfasalazina cristalina y de aproximadamente un 46% sobre la sulfasalazina amorfa. La formulación 50 % sulfasalazina:polímero PVP VA64 tuvo un aumento de solubilidad de aproximadamente un 508 % en comparación con la sulfasalazina cristalina y de aproximadamente un 372 % sobre la sulfasalazina amorfa. La formulación 25 % sulfasalazina:polímero PVP VA64 tuvo un aumento de solubilidad de aproximadamente un 883 % en comparación con la sulfasalazina cristalina y de aproximadamente un 647 % sobre la sulfasalazina amorfa.

Tabla 10: Solubilidad de los compuestos en tampón gástrico y en tampón intestinal

Muestra	C _{máx} GB (ug/ml)	C _{máx} IB (ug/ml)	C _{máx} IB (ug/ml) a 90 min	C _{máx} IB (ug/ml) a 1200 min	ABC (min*µg/ml)	Relación de ABC a sulfasalazina cristalina	Relación de ABC a sulfasalazina amorfa
Sulfasalazina cristalina (Ref)	15	282	271	282	22.200	100,0 %	73,3 %
Sulfasalazina amorfa (Ref)	154	372	372	367	30.300	136,5 %	100,0 %

(continuación)

Muestra	Cmáx GB (ug/ml)	Cmáx IB (ug/ml)	Cmáx IB (ug/ml) a 90 min	Cmáx IB (ug/ml) a 1200 min	ABC (min*µg/ml)	Relación de ABC a sulfasalazina cristalina	Relación de ABC a sulfasalazina amorfa
25% sulfasalazina: HPMCAS-MG (Comparativa)	34	725	571	725	44.400	200,0 %	146,5 %
50 % sulfasalazina: PVP VA64	67	1.372	1.232	1.073	112.800	508,1 %	372,3 %
25% sulfasalazina: PVP VA64	425	2.350	2.319	2.290	196.200	883,8 %	647,5 %

Ejemplo 10

- 5 La reformulación de sulfasalazina aumenta la biodisponibilidad oral *in vivo*.

Los siguientes experimentos demuestran que la administración de una composición de 25% sulfasalazina:PVP VA64 SDD da como resultado un aumento significativo en la biodisponibilidad oral, en comparación con la administración de sulfasalazina cristalina en un modelo de rata. Preparación de compuestos

- 10 Se obtuvo sulfasalazina cristalina de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), n.º de catálogo S0883. La sulfasalazina cristalina se resuspendió en Methocel al 0,5 % (Methocel A4M Premium, Dow Chemical, Midland, MI) hasta una concentración de 40 mg/ml de sulfasalazina. La resuspensión de la composición de sulfasalazina cristalina se llevó a cabo añadiendo gota a gota el Methocel al 0,5 % a la composición, y posterior mezclado en un mortero con mano hasta que la
- 15 suspensión quedó resuspendida uniformemente para formar la composición de referencia no reformulada. Por separado, una muestra de 25% sulfasalazina:PVP VA64 SDD (Formulación ilustrativa 2) se suspendió de nuevo en Methocel al 0,5 % hasta una concentración de 40 mg/ml de sulfasalazina por ml. La composición de 25% sulfasalazina:PVP VA64 SDD se resuspendió añadiendo gota a gota el Methocel al 0,5 % a la composición, y posterior mezclado en un mortero con mano hasta que la suspensión quedó resuspendida uniformemente, formando la
- 20 composición reformulada.

Diseño del estudio con animales, Dosificación y recogida de plasma:

- 25 En el estudio se utilizaron un total de 6 ratas Sprague Dawley, divididas en 2 cohortes como se muestra en la Tabla 10. Todas las ratas eran machos con un intervalo de pesos de 202 gramos a 214 gramos cada una. Las ratas se dejaron comer a voluntad antes del ensayo. De manera independiente, la formulación de sulfasalazina cristalina y a composición reformulada de 25% sulfasalazina:75%PVP VA64 SDD se administraron mediante sonda gástrica a una dosis de 400 mg/kg. Después de la administración del fármaco, se recogieron 200 µl de plasma de cada animal en los siguientes puntos temporales: 30, 60, 90, 120, 160 y 240 minutos. Las muestras de plasma se congelaron súbitamente
- 30 en N₂ líquido y se almacenaron a -80 °C hasta su análisis.

- Los niveles plasmáticos de sulfasalazina detectados en el plasma de las ratas en los diferentes puntos temporales se proporcionan en la Tabla 11, los valores de resumen y estadísticos se proporcionan en la Tabla 12, y los datos se presentan en forma gráfica en la Fig. 16. Una rata (n.º 6326) mostró evidencia de que el fármaco se administró
- 35 parcialmente a los pulmones, dando como resultado elevados niveles plasmáticos, y los valores de esta rata no se incluyeron en los valores medios calculados ni en el análisis estadístico. La administración oral de sulfasalazina, tanto la forma cristalina como la formulación 25% sulfasalazina:PVP VA64 SDD mostraron una inmediata acumulación en plasma en los primeros 30 minutos desde la administración. La sulfasalazina reformulada (25% sulfasalazina:PVP VA64 SDD) mostró niveles plasmáticos más altos, comprendidos de aproximadamente 300% en el primer punto
- 40 temporal a 30 minutos hasta aproximadamente 160% en el punto temporal a 3 horas, cuando se compara con la composición de sulfasalazina cristalina tras la administración oral.

Tabla 11. Concentraciones de sulfasalazina en plasma.

	Analito	Niveles de sulfasalazina, Plasma (ng/ml)							
	Tratamiento	Reformulación (25%Sulfasalazina:PVP-VA64 SDD)				Precursor (Cristalino) (Ref)			
	ID sujeto	6326*	6327	6328	Niveles medios	6329	6330	6331	Niveles medios
Puntos temporales	0,5 h	23.200	4.760	4.370	4.565	1.390	1.270	1.800	1.487
	1 h	27.400	3.020	3.080	3.050	1.050	1.380	991	1.140
	1,5 h	17.100	2.980	2.910	2.945	1.340	1.810	1.130	1.427
	2 h	10.400	2.720	2.660	2.690	1.050	1.380	1.340	1.257
	3 h	7.130	1.520	1.780	1.650	939	787	1.360	1.029
	4 h	3.790	271	1.050	661	872	790	887	850
*El animal experimental mostró evidencia de que el fármaco se administró al pulmón; los valores de este animal se omitieron en el cálculo del valor medio.									

Tabla 12. Resumen y estadísticas del experimento de biodisponibilidad. Todas las estadísticas se calcularon usando la prueba de la t de Student bilateral.

Puntos temporales	Reformulación (25%Sulfasalazina:PVP-VA64 SDD) Valores medios	(Ref) Precursor (Cristalino) Valores medios	Diferencia porcentual: Reformulado/Precursor	valor p
0,5 h	4.565	1.487	307 %	0,0012
1 h	3.050	1.140	267 %	0,0012
1,5 h	2.945	1.427	206 %	0,0100
2 h	2.690	1.257	214 %	0,0018
3 h	1.650	1.029	160 %	0,0820
4 h	661	850	78 %	0,7755

5

La Fig. 16 muestra los valores medios de la sulfasalazina en plasma representados en formato gráfico.

Los resultados de los experimentos anteriores demuestran que: (1) la sulfasalazina reformulada alcanza mayores concentraciones plasmáticas tras la administración oral que la formulación de sulfasalazina cristalina, y que (2) el aumento en las concentraciones plasmáticas era de aproximadamente un 300 % a un 160 % durante las tres primeras horas de administración. Estos resultados demuestran que la sulfasalazina se puede reformular para aumentar la biodisponibilidad oral.

Aunque numerosas realizaciones ilustrativas, aspectos y variaciones se han proporcionado en el presente documento, los expertos en la técnica reconocerán ciertas modificaciones, permutaciones, adiciones y combinaciones y ciertas subcombinaciones de las realizaciones, aspectos y variaciones. Se pretende que todas estas modificaciones, permutaciones, adiciones y combinaciones y ciertas subcombinaciones de las realizaciones, aspectos y variaciones estén dentro del alcance de la invención según se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

Todos los intervalos indicados en la presente memoria descriptiva incluyen los puntos finales proporcionados en dichos intervalos salvo que se indique lo contrario claramente.

Bibliografía:

1. Compton A., et al, 2008. Multiple sclerosis. Lancet 372:1502-1517.
2. Trapp, B. et al. (2008). Multiple sclerosis: an immune or neurodegenerative disorder? Annu. Rev. Neurosci. 31:247-269.
3. Kremenetsky M., et al. (2006). The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study 9:

Observations on the progressive phase of the disease. *Brain* 129:584-594.

4. Lassmann H., et al. (2012). Progressive multiple sclerosis: pathology and pathogenesis. *Nat. Rev. Neurology* 8:647-656.

5. Stys P., et al. (2012). Will the real multiple sclerosis please stand up? *Nat. Rev. Neuroscience* 13:507-514.

6. Fox, R., et al. 2012. Setting a research agenda for progressive multiple sclerosis: the International Collaborative on Progressive MS. *Multiple Sclerosis Journal* 18:1534-1540.

7. Fitzner, D., et al. Chronic progressive multiple sclerosis - pathogenesis of neurodegeneration and therapeutic strategies. *Curr. Neuropharmacology* 8:305-315 (2008).

8. Weiner, H. 2008. A shift from adaptive to innate immunity: a potential mechanism of disease progression in multiple sclerosis. *J. Neurology* 255, Supl. 1:3-11.

9. Burns S., et al. 2012. Mitoxantrone repression of astrocyte activation: Relevance to multiple sclerosis. *Brain Res.* 1473: 236-241.

10. Frigo, M. 2012. Glutamate and Multiple Sclerosis. *Curr. Medicin. Chem.* 19:1295-1299.

11. Matute, 2011. Glutamate and ATP signaling in white matter pathology. *J. Anatomy* 219:53-64.

12. Sarchielli, P. et al. 2003. Excitatory amino acids and multiple sclerosis: Evidence from cerebrospinal fluid. *Arch. Neurol.* 60:1082-1088.

13. Eriksson, M., et al. 2002. Epileptic seizures, cranial neuralgias and paroxysmal symptoms in remitting and progressive multiple sclerosis. *Mult. Scler.* 8:495-499.

14. Svendsen, K., et al. 2004. Sensory function and quality of life in patients with multiple sclerosis and pain. *Pain* 114: 473-481.

15. Bogaert, E., et al. 2010. Amyotrophic lateral sclerosis and excitotoxicity: from pathological mechanism to therapeutic target. *CNS Neurol. Disord. Drug Targets* 9:297-304.

16. Philips. T., et al. 2011. Neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis: role of glial activation in motor neuron disease. *Lancet Neurol.* 10:253-263.

17. Ilieva, H., et al. 2009. Non-cell autonomous toxicity in neurodegenerative disorders: ALS and beyond. *J. Cell Biol.* 187: 761-772.

18. Lin, L., et al. 2010. The interaction of the neuroprotective compounds riluzole and phenobarbital with AMPA-type glutamate receptors: a patch-clamp study. *Pharmacology.* 85:54-62.

19. Baron, R., et al. 2010. Neuropathic pain: diagnosis, pathophysiological mechanisms, and treatment. *Lancet Neurology* 9: 807-819.

20. Berti-Mattera, L., et al. 2008. Sulfasalazine Blocks the Development of Tactile Allodynia in Diabetic Rats. *Diabetes* 57: 2801-2808.

21. Ungard, R., et al. 2014. Inhibition of breast cancer-cell glutamate release with sulfasalazine limits cancer-induced bone pain. *Pain* 155: 28-36.

22. Weaver, A., et al. 1999. Improved gastrointestinal tolerance and patient preference of enteric-coated sulfasalazine versus uncoated sulfasalazine tablets in patients with rheumatoid arthritis. *J. Clin. Rheumatol.* 5: 193-200.

23. Peppercorn, M. 1987. Sulfasalazine and related new drugs. *J Clin Pharmacol.* 27: 260-265.

24. Watkinson, G. 1986. Sulphasalazine: a review of 40 years' experience. *Drugs.* 32: Suppl 1:1-11.

25. Noseworthy, J., et al. 1998. The Mayo clinic-Canadian cooperative trial of sulfasalazine in active multiple sclerosis. *Neurology* 15: 1342-1352.

26. Khan, A., et al. 1980. Optimum dose of sulfasalazine for maintenance treatment in ulcerative colitis. *Gut* 21:232-240.

27. Yamasaki, Y., et al. 2007. Pharmacogenetic characterization of sulfasalazine disposition based on NAT2 and ABCG2 (Bcrp) gene polymorphisms in humans. Clin. Pharmac. Therap. 84: 95-103.
- 5 28. de Jong, F., et al. 2004. ABCG2 Pharmacogenetics: Ethnic differences in allele frequency and assessment of influence on irinotecan disposition. Clin. Cancer Res. 10:5889-5894.
29. Buckingham, S., et al. 2011. Glutamate release by primary brain tumors induces epileptic activity. Nat Med. 17:1269-1274.
- 10 30. Gurney M, et al. 1994. Motor neuron degeneration in mice that express a human Cu/Zn superoxide dismutase mutation. Science 264: 1772-1775.
31. Scott S, et al. 2008. Design, power, and interpretation of studies in the standard murine model of ALS. Amyotroph Lateral Scler 9: 4-15.
- 15 32. Shin, J., et al. 2012. Concurrent blockade of free radical and microsomal prostaglandin E synthase-1-mediated PGE(2) production improves safety and efficacy in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. J. Neurochem. 122: 952-961.
- 20 33. Lincecum, J., et al. 2010. From transcriptome analysis to therapeutic anti-CD40L treatment in the SOD1 model of amyotrophic lateral sclerosis. Nat. Genetics 42: 392-411.
- 25 34. Zaher, H., et al. 2005. Breast cancer resistance protein (Bcrp/abcg2) is a major determinant of sulfasalazine absorption and elimination in the mouse. Mol. Pharmaceutics 3: 55-61.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en la que la sulfasalazina está en una forma esencialmente amorfa y en donde la composición farmacéutica se formula con un polímero farmacéuticamente aceptable, siendo el polímero farmacéuticamente aceptable PVP VA64, y la relación de la sulfasalazina al PVP VA64 en la composición farmacéutica está en el intervalo de 5:95 p/p a 50:50 p/p.
2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en la que la relación de sulfasalazina a PVP VA64 en la composición farmacéutica es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p.
3. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, la relación de sulfasalazina a PVP VA64 es de aproximadamente 25:75 p/p.
4. La composición farmacéutica de la reivindicación 1, en donde la composición farmacéutica está en forma de una dispersión secada por pulverización.
5. Una composición farmacéutica para su uso en un método de tratamiento de un paciente con una enfermedad o un trastorno neurodegenerativos, comprendiendo la composición sulfasalazina y un excipiente farmacéuticamente aceptable, en donde la sulfasalazina está en una forma esencialmente amorfa y en donde la composición farmacéutica está formulada con un polímero farmacéuticamente aceptable, siendo el polímero farmacéuticamente aceptable PVP VA64, y la relación de la sulfasalazina al PVP VA64 en la composición farmacéutica está en el intervalo de 5:95 p/p a 50:50 p/p.
6. La composición farmacéutica para su uso en el método de la reivindicación 5, en la que la relación de sulfasalazina a PVP VA64 en la composición farmacéutica es de aproximadamente 20:80 p/p a 30:70 p/p.
7. La composición farmacéutica para su uso en el método de la reivindicación 6, la relación de sulfasalazina a PVP VA64 es de aproximadamente 25:75 p/p.
8. La composición farmacéutica para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en donde la composición farmacéutica está en forma de una dispersión secada por pulverización.
9. La composición farmacéutica para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en donde la enfermedad o el trastorno neurodegenerativos son esclerosis lateral amiotrófica (ELA).
10. La composición farmacéutica para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en donde la enfermedad o el trastorno neurodegenerativos son esclerosis múltiple progresiva (P-MS).
11. La composición farmacéutica para su uso en el método de una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en donde la enfermedad o el trastorno neurodegenerativos son epilepsia.

Figura 1

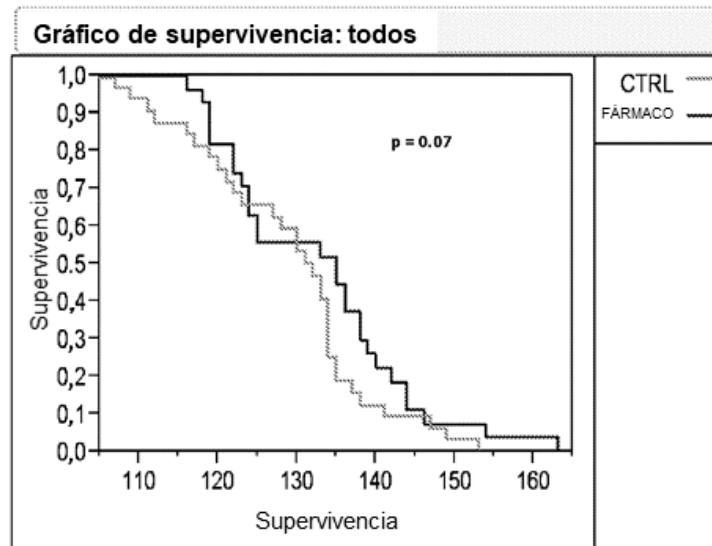


Figura 2

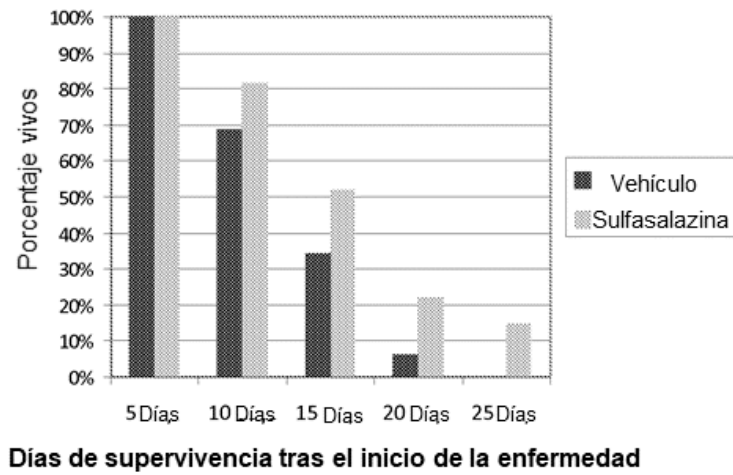


Figura 3

Porcentaje de cambio en la duración
de la vida tras el inicio de la
enfermedad, tratamiento/vehículo

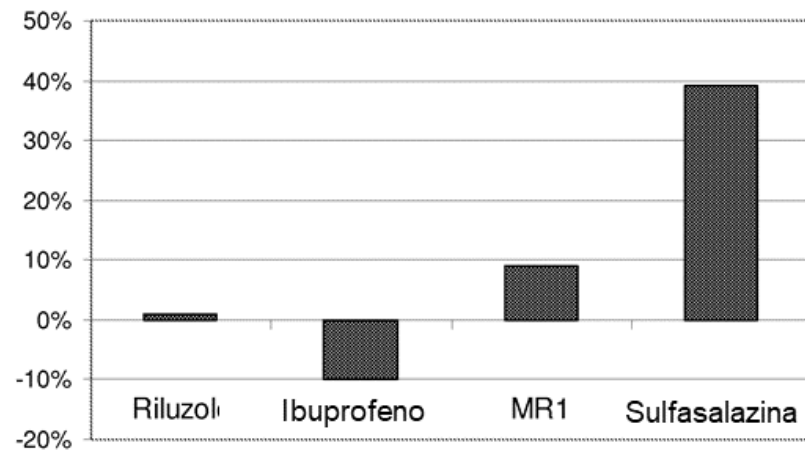


Figura 4

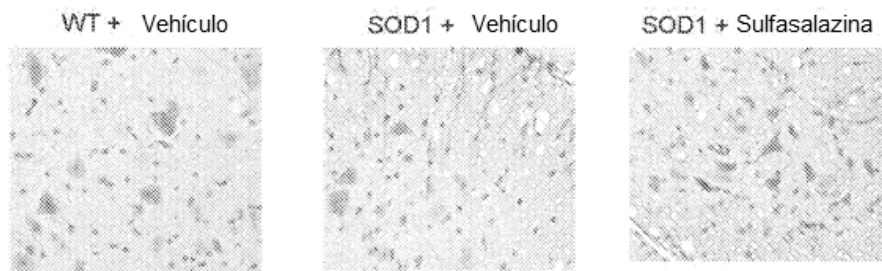
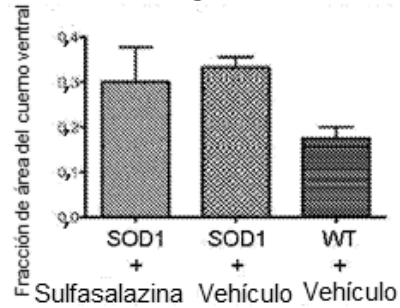
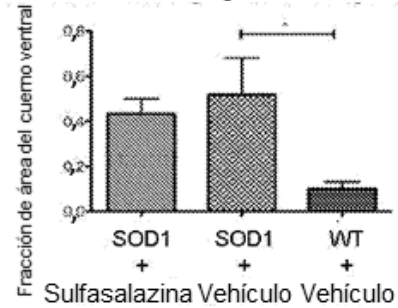


Figura 5

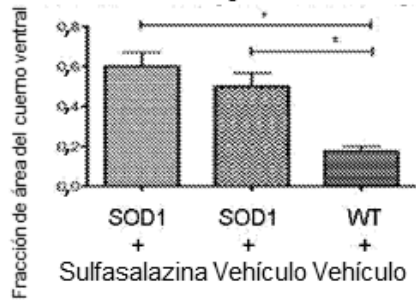
A. Niveles xCT en la región cervical día 85



B. Niveles xCT en la región lumbar día 85



C. Niveles xCT en la región cervical día 100



D. Niveles xCT en la región lumbar día 100

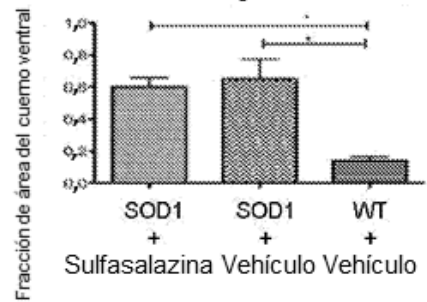


Figura 6

Niveles xCT en el cuerno ventral de la médula espinal

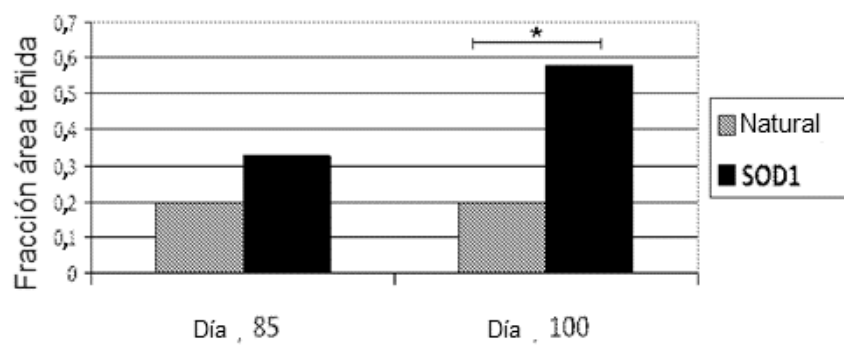


Figura 7

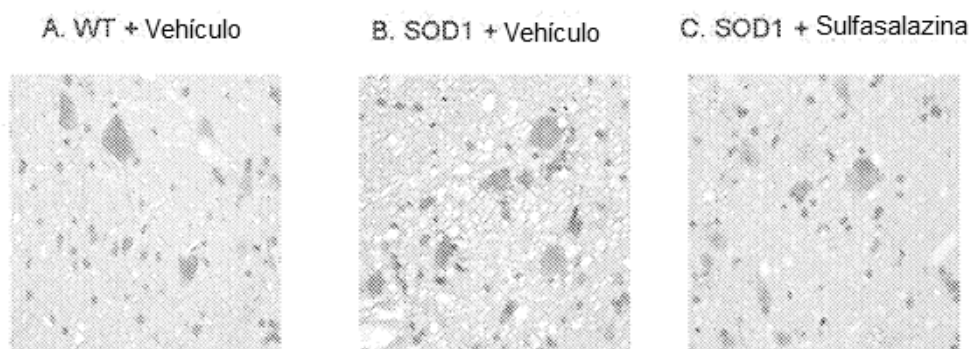


Figura 8

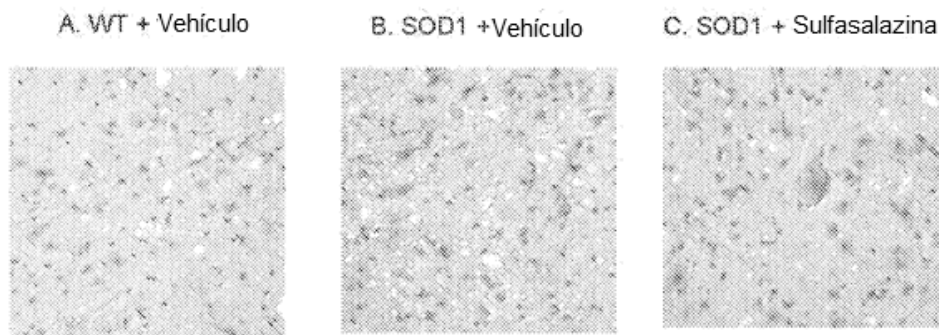


Figura 9

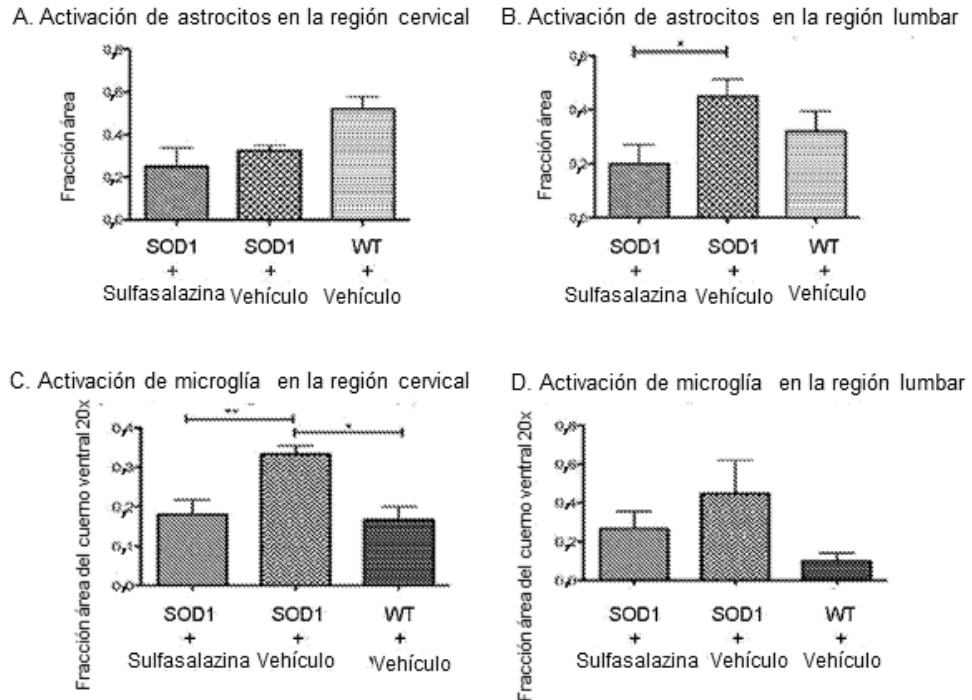
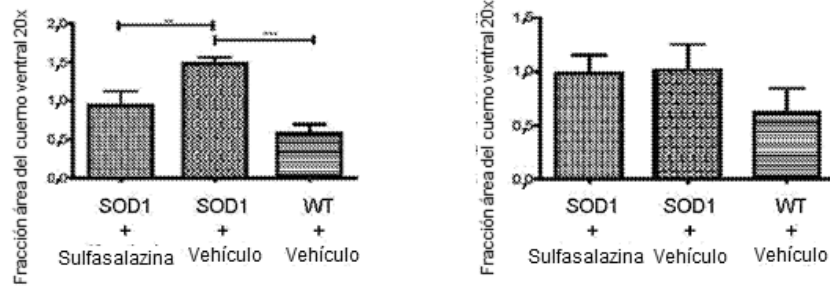


Figura 10

A. Activación de astrocitos en la región cervical B. Activación de astrocitos en la región lumbar



C. Activación de microglía en la región cervical D. Activación de microglía en la región lumbar

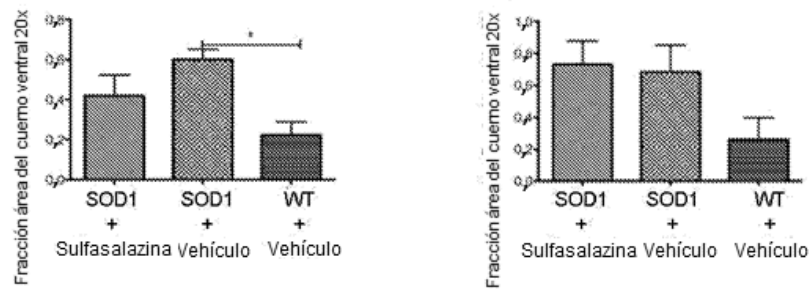


Figura 11

Concentración de sulfasalazina en la medula espinal (ng/gramo)

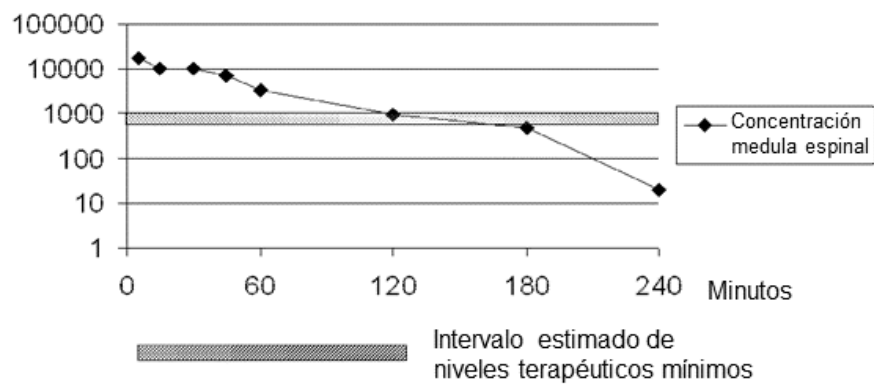


Figura 12

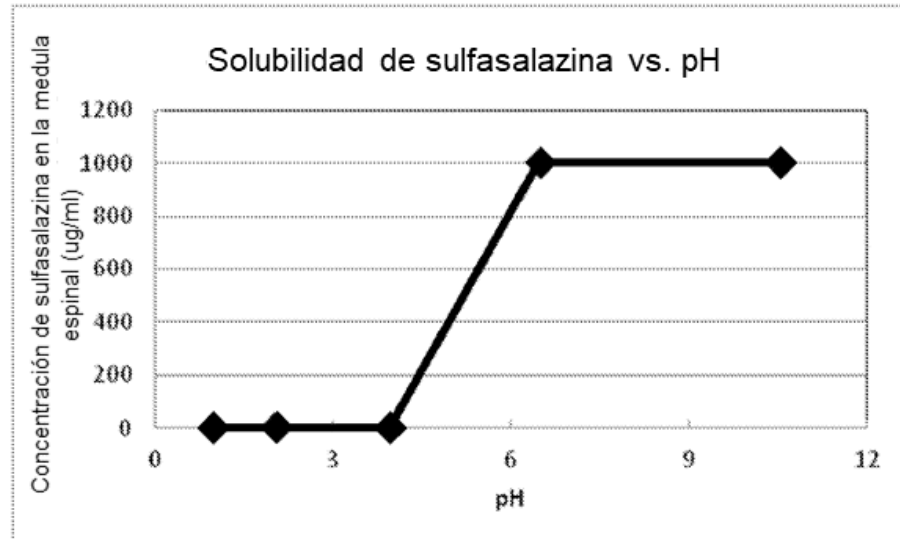


Figura 13

Las dispersiones son amorfas según en análisis PXRD

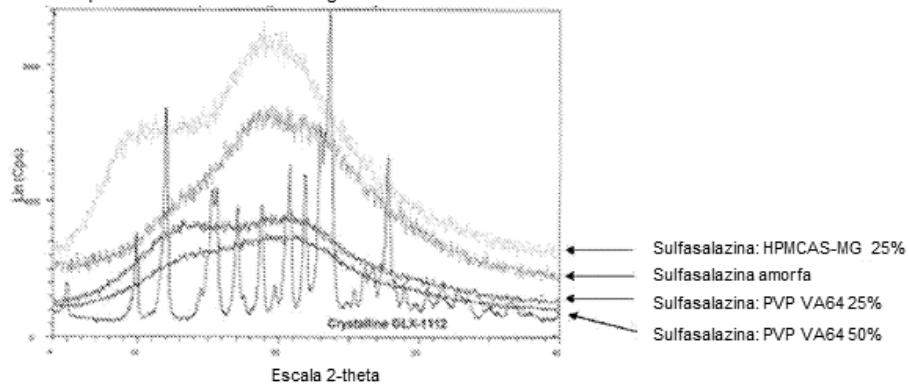


Figura 14

Las dispersiones muestran una sola T_g , lo que indica homogeneidad

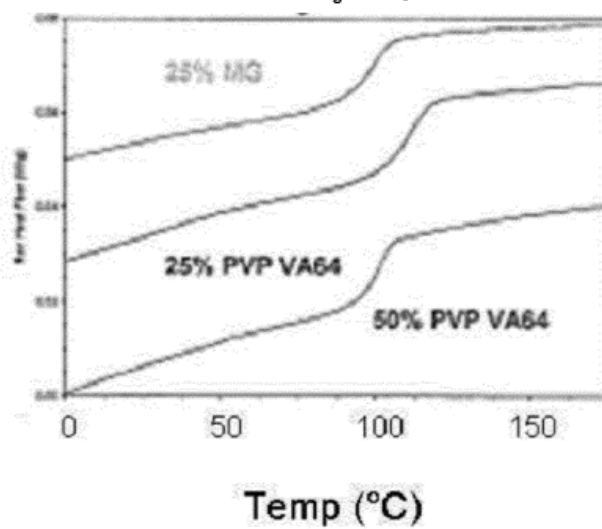


Figura 15

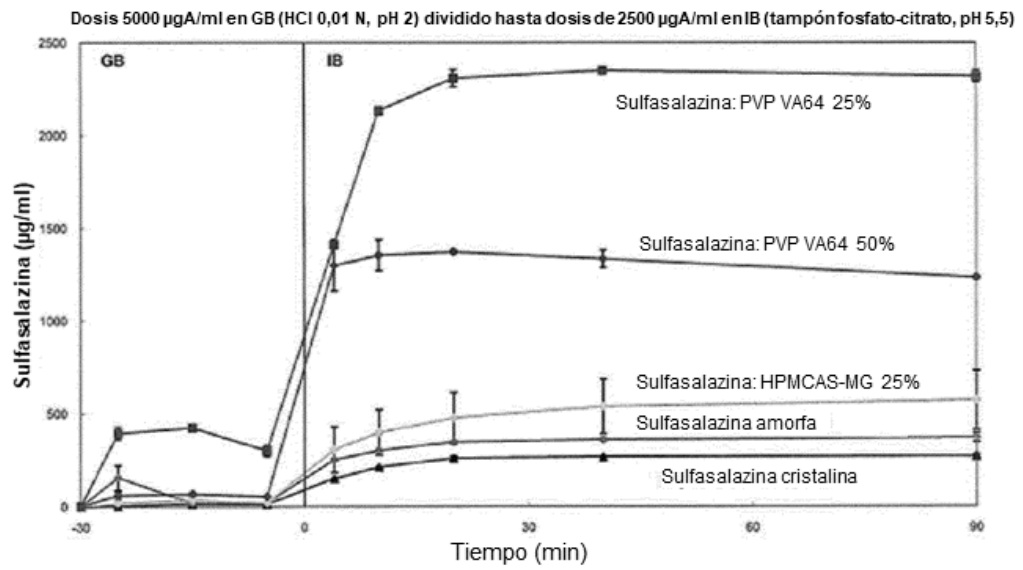


Figura 16

