

COMPUESTOS DE BENCIMIDAZOL PARA EL TRATAMIENTO DE TRASTORNOS METABÓLICOS

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se relaciona en forma amplia con un compuesto de bencimidazol para el tratamiento de obesidad, diabetes, enfermedad de hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica.

ARTE PREVIO

La obesidad, diabetes y enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD) se han tornado importantes cuestiones de salud pública en todo el mundo y la escala de estas epidemias continúa creciendo anualmente. La obesidad es una condición crónica que representa un importante factor de riesgo para el desarrollo de varias comorbilidades, tales como diabetes y NAFLD (Wang C y Liao JK (2013). *A Mouse Model of Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance*. Methods Mol Biol. 821: 421–433). De acuerdo con una estimación de la Organización Mundial de la Salud (OMS), había más de 1,9 mil millones de adultos con sobrepeso globalmente en 2016, de los cuales 650 millones eran obesos. La prevalencia global de NAFLD es estimada en 25% de la población mundial. Sin embargo, se observa una prevalencia aún mayor, 42% a 70%, en pacientes diabéticos. Más aún, es esperable que 1 de cada 11 adultos tengan diabetes mellitus.

NAFLD es una enfermedad compleja que puede ser clasificada como hígado graso no alcohólico (NAFL) y esteatohepatitis no alcohólica (NASH), dependiendo de su severidad. NAFL consiste en esteatosis hepática sin daño

hepatocelular significativo, mientras que NASH está caracterizada por una combinación de esteatosis, daño en hepatocitos e inflamación con o sin fibrosis. NAFLD puede progresar adicionalmente en cirrosis, carcinoma hepatocelular y otras complicaciones para las cuales el trasplante de hígado es la única opción terapéutica.

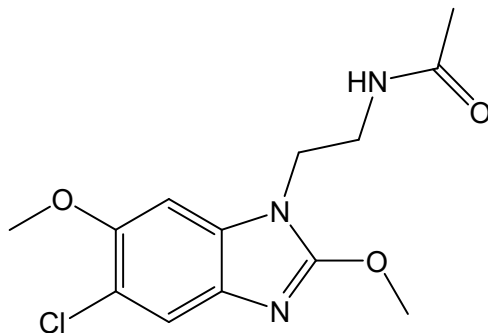
Actualmente no existen drogas aprobadas en el mercado para el tratamiento de NAFLD. Dado el alto nivel de necesidad clínica no satisfecha en el área, es de significativo interés el desarrollo de nuevas terapias para el tratamiento de obesidad, diabetes, NAFLD y NASH.

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es una hormona natural que influencia la regulación circadiana de los niveles de glucosa e insulina, sincronizando el metabolismo con los ciclos diarios de alimentación y ayuno (Cipolla-Neto J et al. (2014). *Melatonin, energy metabolism, and obesity: a review*. J Pineal Res. 56(4):371-81). Las mutaciones genéticas en los receptores de melatonina y la señalización alterada de la melatonina han sido relacionadas con niveles aumentados de glucosa plasmática en ayunas, deteriorada secreción de insulina y mayor riesgo de diabetes de tipo 2 (Bouatia-Naji N et al. (2009). *A variant near MTNR1B is associated with increased fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes risk*. Nat Genet. 41(1):89-94; Tuomi T et al. (2016). *Increased Melatonin Signaling Is a Risk Factor for Type 2 Diabetes*. Cell Metab. 23(6):1067-1077). Estudios en ratones con ablación genética para MT1 (MT1^{-/-}) o MT2 (MT2^{-/-}) mostraron diferentes efectos de estos receptores en el metabolismo de glucosa e insulina. Los ratones MT1^{-/-} exhiben un fenotipo metabólico robusto,

con mayor ganancia de peso acumulativa, hiperglucemia y marcada resistencia a la insulina. En contraste los ratones MT2-/- tienen reducida sensibilidad a la insulina hepática pero aumentada liberación de insulina (Owino S et al. (2018). *Nocturnal activation of melatonin receptor type 1 signaling modulates diurnal insulin sensitivity via regulation of PI3K activity*. J Pineal Res. 64(3); Tuomi T et al. (2016). *Increased Melatonin Signaling Is a Risk Factor for Type 2 Diabetes*. Cell Metab. 23(6):1067-1077). Más aún, la regulación de MT1 y MT2 tiene importantes diferencias en la estimulación de la melatonina. La activación de MT2 desensibiliza la respuesta de AMPc, mientras que la activación de MT1 conduce a supersensibilización de AMPc en el subsiguiente período de abstinencia (Witt-Enderby PA et al. (1998). *Physiological exposure to melatonin supersensitizes the cyclic adenosine 3',5'-monophosphate-dependent signal transduction cascade in Chinese hamster ovary cells expressing the human mt1 melatonin receptor*. Endocrinology.139(7):3064-71; Karamitri A et al. (2019). *Melatonin in type 2 diabetes mellitus and obesity*. Nat Rev Endocrinol. 15(2):105-125). Aunque estos hallazgos sugieren que las drogas que regulan los receptores MT1/MT2 podrían tener un impacto positivo en el tratamiento de la obesidad, diabetes y enfermedades metabólicas del hígado, no han sido nunca desarrolladas drogas con diana en los receptores específicos de melatonina (MT1 o MT2) en tejidos periféricos.

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención se relaciona en forma amplia con un compuesto de bencimidazol de la Fórmula I para el tratamiento de obesidad, diabetes, enfermedad de hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica:



Fórmula I

o sales, cristales, hidratos, prodrogas, metabolitos o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

Dentro del significado del compuesto derivado de bencimidazol de la invención también están incluidos sales, cristales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, siempre que provean significativamente la actividad del compuesto. Dentro del significado del compuesto derivado de bencimidazol de la invención también están incluidos prodrogas y metabolitos del mismo, así como la molécula de la base libre con menores modificaciones (por ej. inclusión de sustituyentes), lo cual, como es conocido para una persona experta en el arte, dan por resultado compuestos equivalentes y no modifican significativamente el farmacóforo de la molécula hacia el tratamiento de obesidad, diabetes, enfermedad de hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica.

Otro aspecto de la invención son sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables del compuesto de la Fórmula I, tales como sales de adición inorgánicas por ej. clorhidrato, bromhidrato, sulfato, nitrato, fosfato, y sales de

adición orgánicas farmacéuticamente aceptables del compuesto de la Fórmula I tales como acetato, propionato, hexanoato, heptanoato, glicolato, piruvato, lactato, malonato, malato, maleato, fumarato, tartrato, citrato, succinato, mesilato, acistrato, besilato, tosilato, xinafoato, benzoato, p-toluensulfonato, cinnamato, p-clorobencensulfonato, 2-naftalensulfonato, p-toluensulfonato, canforsulfonato, trimetilacetato, t-butilacetato, laurilsulfato, gluconato, glutarato, hidroxinaftoato, salicilato, estearato, muconato, mandelato, 2-hidroxietansulfonato y de las sales de adición alcalinas de los metales sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, bismuto, bromuro; y de sales farmacéuticamente aceptables con las bases orgánicas aminas primarias, secundarias o terciarias; y sales con los aminoácidos arginina, lisina, histidina, cafeína, procaína, hidrobamina, colina, betaína, etilendiamina, glicosamina, teobromina, purina, morfina.

La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica para el tratamiento de obesidad, diabetes, enfermedad de hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica que comprende el compuesto de la Fórmula I y excipientes farmacéuticamente aceptables.

La selección de excipientes a ser utilizados o la preparación de composiciones farmacéuticas es emprendida generalmente considerando el tipo de vía de administración, la compatibilidad física y química del excipiente con el ingrediente activo, la manera de preparar la presentación farmacéutica y los efectos en su eficacia. Estos excipientes son conocidos en el arte y están descriptos en la literatura (por ejemplo en: Handbook of Pharmaceutical

Manufacturing Formulations – Vol. 1 a 6 – 2004 – Sarfaraz K. Niazi – CRC Press y Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing), ampliamente utilizados por los profesionales técnicos en la materia.

Para uso y administración terapéuticos, el compuesto bencimidazol de la presente invención puede ser formulado en composiciones apropiadas para administración oral, parenteral, nasal, rectal, transmucosal y transdérmica, utilizando técnicas convencionales y excipientes apropiados.

No hay restricciones específicas en cuanto a las formas de dosificación que comprenden el compuesto bencimidazol de la invención. Por ejemplo, como un sólido para administración oral las formas de dosificación adecuadas pueden ser tabletas, píldoras, grageas, cápsulas, gránulos, polvos, pellets, liofilizados y presentaciones similares. Como un líquido para administración oral, las formas de dosificación adecuadas pueden ser soluciones, dispersiones, suspensiones, emulsiones, aceites, jarabes, etc. Las formas de dosificación líquidas pueden ser utilizadas para inyecciones, tales como intravenosa, intramuscular, subcutánea e intradérmica.

Otros ejemplos de formas de dosificación comprenden liposomas y nanopartículas, o cualesquiera otros aspectos de administración conocidos para una persona experta en el arte. La forma de dosificación puede proveer liberación inmediata, controlada o demorada del compuesto bencimidazol de la invención.

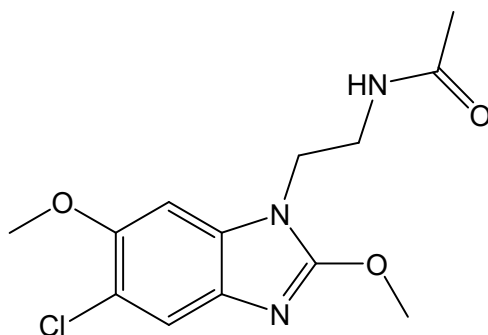
En otras formas de realización, la presente invención se refiere al uso del compuesto de la Fórmula I en la fabricación de una composición farmacéutica

para el tratamiento de obesidad, diabetes, enfermedad de hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica.

Otro aspecto de la invención son formas de dosificación, como se describe anteriormente, que contienen 0,01 a 5000 mg del compuesto bencimidazol de la invención, por ejemplo, y pueden ser administradas una vez o más veces al día, durante el tratamiento.

En una forma de realización particular, la composición de la invención puede comprender, aparte del compuesto bencimidazol, al menos otro principio activo utilizado para el tratamiento de obesidad, diabetes, enfermedad de hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica, por ejemplo elegido de metformina, insulina y derivados de la misma, sulfonilureas, inhibidores de SGLT-2, inhibidores de DPP4, agonistas de GLP-1, meglitinides, tiazolidindionas, inhibidores de alfa-glucosidasa, agonistas de FXR, agonistas de PPAR, inhibidor de ASK1, antagonistas de CCR2 y CCR5, inhibidores de caspasa, sensibilizadores de insulina y conjugados de ácido cólico-araquídico.

En otro aspecto, la invención se relaciona con el método para el tratamiento de obesidad, diabetes, enfermedad de hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica que comprende un compuesto bencimidazol de la Fórmula I:



Fórmula I

o sales, cristales, hidratos, solvatos, prodrogas o metabolitos del mismo farmacéuticamente aceptables.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Las Figuras 1 A a D muestran el efecto del compuesto de la Fórmula I en el peso corporal (BW) e ingesta de alimento (FI) de ratas SD macho mantenidas en HFD. El compuesto bencimidazol de la Fórmula I, el compuesto comparativo de la Fórmula II, y dapagliflozina fueron administrados a animales alimentados en HFD. Se administró vehículo a los animales alimentados con alimento normal o HFD. Se muestran los datos como medias ajustadas - SEM de n=9-10 animales (BW y ganancia de BW) o n=5 jaulas (FI y FI promedio diario) por grupo. Los datos fueron analizados mediante ANCOVA con BW en el día 1 (A y C) o FI promedio durante el período de línea de base (B y D) como covariable, excluyendo el grupo Vehículo Alimento. Los grupos de tratamiento fueron comparados con HFD Vehículo mediante ensayos separados de Williams (compuestos I o II) o pruebas t múltiples (dapagliflozina) y considerados estadísticamente significativos si $p < 0,05$. La significancia estadística está indicada como “a”, “b”, “c”, “d” y “e” para los grupos HFD tratados respectivamente con dapagliflozina, compuesto II a 10 mg/kg, compuesto II a 30 mg/kg, compuesto I a 10 mg/kg y compuesto I a 30 mg/kg. # ($p=0,051$) y & ($p=0,098$) significan tendencias hacia significancia en comparaciones con HFD Vehículo.

Las Figuras 2 A a C muestran el efecto del compuesto de la Fórmula I en glucosa en plasma (A), insulina (B) y HOMA-IR (C) de ratas SD macho mantenidas en

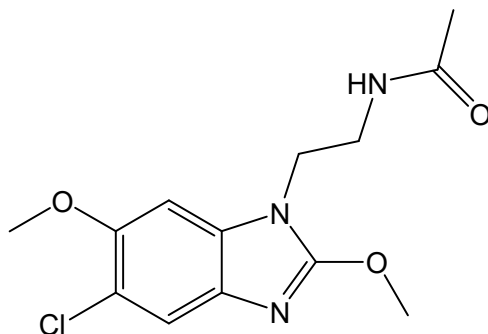
HFD. Se administraron compuesto I, compuesto II, dapagliflozina a animales alimentados en HFD. Se administró vehículo a animales alimentados con alimento normal o HFD. Se evaluaron los parámetros en el día 51. Se exhiben los datos como medias ajustadas $\pm$ SEM (n=9-10). El análisis estadístico fue realizado utilizando un modelo lineal general (glucosa y HOMA-IR) o regresión robusta (insulina) del log de datos transformados (insulina), con tratamiento como factor y órdenes de sangrado y BW en el día 1 (excepto comparaciones contra el grupo Alimento Vehículo) como covariables. Los grupos de tratamiento fueron comparados con HFD Vehículo mediante ensayos separados de Williams (compuesto I y compuesto II) o pruebas t múltiples (dapagliflozina) y las diferencias estadísticamente significativas están indicadas mediante **p<0,01 y ***p<0,001. Se realizaron comparaciones contra Alimento Vehículo mediante pruebas t múltiples (grupos HFD Vehículo y dapagliflozina) o ensayo de Dunnett (compuesto I y compuesto II) y las diferencias estadísticamente significativas están indicadas mediante † (p<0,05) y †† (p<0,01).

Las Figuras 3 A a H muestran el efecto del compuesto de la Fórmula I en triglicéridos (A-B), glucógeno (C-D) e histopatología (E-H) en hígado de ratas SD macho mantenidas en HFD. Se evaluaron los parámetros después de un tratamiento oral crónico con el compuesto I a 10 y 30 mg/kg, dapagliflozina a 5 mg/kg o vehículo para animales que recibían HFD. También se administró vehículo a los animales que recibían alimento normal. Se cuantificaron los triglicéridos en hígado utilizando el analizador clínico Cobas C111 TRIGL 04657594 190. Se realizó la cuantificación de glucógeno en muestras de hígado

utilizando los kits comerciales (Thermo BioVision, Glycogen Assay Kit, K646-100). Los datos se muestran como medias $\pm$ SEM (A-D) o datos crudos que incluyen media $\pm$ SEM (E-H), n=9-10. El análisis estadístico de triglicéridos en hígado (A-B) y glucógeno (C-D) fue realizado mediante modelo lineal general de log de datos transformados (triglicéridos solamente) con tratamiento y cohorte como factores y orden de terminación y BW en el día 1 como covariables. Los grupos de tratamiento fueron comparados con HFD Vehículo mediante ensayos de Williams separados (compuesto I) o pruebas t múltiples (dapagliflozina) y las diferencias estadísticamente significativas están indicadas mediante * ($p<0,05$), ** ($p<0,01$) y *** ($p<0,001$). Se realizaron las comparaciones contra Alimento Vehículo mediante pruebas t múltiples (grupos HFD Vehículo y dapagliflozina) o ensayo de Dunnett (compuesto I) y las diferencias estadísticamente significativas están indicadas mediante † ($p<0,05$), †† ($p<0,01$) y ††† ($p<0,001$). El análisis de los datos de histopatología del hígado (E.H) fue realizado mediante el ensayo de suma de rango de Wilcoxon exacto. Las diferencias estadísticas están indicadas mediante * ($p<0,05$) en comparación con HFD Vehículo y mediante † ($p<0,05$), †† ($p<0,01$) y ††† ($p<0,001$) cuando se compara con Alimento Vehículo.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Una investigación halló que un cierto derivado de bencimidazol de la Fórmula I, que es también denominado N-[2-(5-cloro-2,6-dimetoxi-bencimidazol-1-il)-etil]-acetamida:



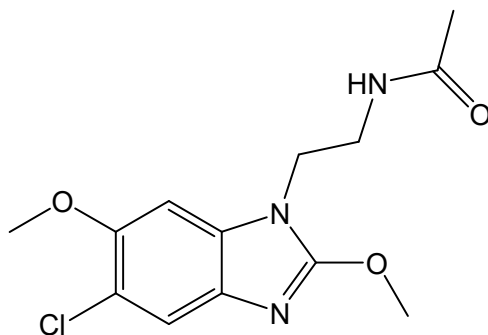
Fórmula I

o sales, cristales, hidratos, prodrogas, metabolitos o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

¹H NMR (400 MHz CDCl₃) δ 1,91 (s, 3H), 3,52 - 3,57(m, 2H), 3,91 (s, 3H), 4,10 - 4,14(m, 5H), 5,62 (br s, 1H), 6,80 (s, 1H), 7,52 (s, 1H). **¹³C NMR** (125 MHz, CDCl₃) δ ppm 23,16; 39,00; 41,16; 56,94; 57,21; 93,02; 116,73; 119,08; 133,20; 133,68; 150,85; 157,61; 170,81. **MS (ESI)** m/z calculado C₁₃H₁₆ClN₃O₃: 297,0880; hallado [M+H]⁺ 298,0977.

Este compuesto fue inventado para actuar como i) agonista melatonérgico con mayor potencia en el receptor MT1 que en el MT2 (Tabla 1) y para ii) exhibir mayor exposición periférica que central, es decir, baja proporción cerebro-a-plasma (Tabla 2), actuando así preferiblemente en tejidos periféricos. El derivado de bencimidazol de la Fórmula I de acuerdo con la presente invención es un potente agonista del receptor de melatonina preferiblemente periférico, con moderada selectividad hacia el receptor MT1, que regula la ganancia en peso y la resistencia a la insulina, los niveles de triglicéridos en hígado y la esteatosis determinada por histología. Así, el derivado de bencimidazol de la Fórmula I de acuerdo con la presente invención agrega valor significativo al tratamiento de obesidad, diabetes y NAFLD/NASH.

En consecuencia, la presente invención se relaciona con un compuesto bencimidazol de la Fórmula I para el tratamiento de obesidad, diabetes, enfermedad de hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica:



Fórmula I

o sales, cristales, hidratos, prodrogas, metabolitos o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

Dentro del significado del compuesto derivado de bencimidazol de la invención también están incluidos sales, cristales, hidratos y solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, siempre que provean significativamente la actividad del compuesto. Dentro del significado del compuesto derivado de bencimidazol de la invención también están incluidos prodrogas y metabolitos del mismo, así como la molécula de la base libre con menores modificaciones (por ej. inclusión de sustituyentes), lo cual, como es conocido para una persona experta en el arte, dan por resultado compuestos equivalentes y no modifican significativamente el farmacóforo de la molécula hacia el tratamiento de obesidad, diabetes, enfermedad de hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica.

Sin excluir cualesquiera otras alternativas, las sales adecuadas del compuesto bencimidazol de la invención son sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables del mismo, tales como sales de adición inorgánicas por ej. clorhidrato,

bromhidrato, sulfato, nitrato, fosfato, y sales de adición orgánicas farmacéuticamente aceptables tales como acetato, propionato, hexanoato, heptanoato, glicolato, piruvato, lactato, malonato, malato, maleato, fumarato, tartrato, citrato, succinato, mesilato, acistrato, besilato, tosilato, xinafoato, benzoato, p-toluensulfonato, cinnamato, p-clorobencensulfonato, 2-naftalensulfonato, p-toluensulfonato, canforsulfonato, trimetilacetato, t-butilacetato, laurilsulfato, gluconato, glutarato, hidroxinaftoato, salicilato, estearato, muconato, mandelato, 2-hidroxietansulfonato y las sales de adición alcalinas de los metales sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, bismuto, bromuro; y de sales farmacéuticamente aceptables con las bases orgánicas aminas primarias, secundarias o terciarias; y sales con los aminoácidos arginina, lisina, histidina, cafeína, procaína, hidrobamina, colina, betaína, etilendiamina, glicosamina, teobromina, purina, morfina.

La presente invención también se refiere a una composición farmacéutica para el tratamiento de obesidad, diabetes, enfermedad de hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica que comprende el compuesto de la Fórmula I y excipientes farmacéuticamente aceptables.

La selección de excipientes a ser utilizados o la preparación de composiciones farmacéuticas es emprendida generalmente considerando el tipo de vía de administración, la compatibilidad física y química del excipiente con el ingrediente activo, la manera de preparar la presentación farmacéutica y los efectos en su eficacia. Estos excipientes son conocidos en el arte y están descriptos en la literatura (por ejemplo en: Handbook of Pharmaceutical

Manufacturing Formulations – Vol. 1 a 6 – 2004 – Sarfaraz K. Niazi – CRC Press y Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing), ampliamente utilizados por los profesionales técnicos en la materia.

Los excipientes farmacéuticos son usualmente clasificados o subclasificados en base a la función que desarrollan en las composiciones farmacéuticas y/o en sus técnicas de fabricación. Pueden ser designados agentes diluyentes, agentes ligantes, agentes disgregantes o antiaglutinamiento, lubricantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, solventes, surfactantes, agentes deslizantes, agentes antiaglutinantes o de fluidez, agentes de recubrimiento, agentes plastificantes, edulcorantes, agentes de isotonicidad, colorantes, conservantes, antioxidantes, agentes de control o modificación del pH, agentes complejantes usados para enmascarar sabor, mejorar la solubilidad, promover la estabilidad de la formulación, y modular la biodisponibilidad, además de agentes quelantes, aromatizantes y saborizantes.

Los agentes diluyentes son excipientes farmacéuticos incluidos en formas de dosificación sólidas, tales como tabletas, cápsulas, píldoras, pellets, polvos y gránulos, con el objeto de aumentar el volumen o el peso del tipo de dosificación. También pueden ser utilizados en formas farmacéuticas líquidas o semisólidas con el mismo propósito. Los ejemplos de agentes diluyentes apropiados para la preparación de composiciones farmacéuticas de esta invención incluyen, pero no están limitados a: carbonato de calcio, fosfatos de calcio, sulfato de calcio, celulosa microcristalina, celulosa en polvo, dextrinas, dextrosa, fructosa, caolín,

lactosa anhidra y/o monohidratada, maltosa, sorbitol, almidones varios (maíz, trigo, patata, tapioca), almidón pregelatinizado, sacarosa y azúcar.

Los agentes ligantes son excipientes farmacéuticos que son incluidos en las formulaciones con el objeto de asegurar un fácil aglutinamiento de polvos para formar gránulos durante la etapa de mezclado (o granulación), utilizando agua como fluido de granulación o mezclas hidroalcohólicas u otros solventes. Los agentes ligantes pueden también ser utilizados en procesos de mezclado en seco en donde no se requieren fluidos. Los ejemplos de agentes ligantes apropiados para la preparación de la composición farmacéutica de esta invención incluyen, pero no están limitados a: goma acacia, ácido algínico, copolímero de metacrilato de amonio, copolímero u homopolímero o interpolímero carbómero, almidones (maíz, trigo, patata, tapioca), celulosa microcristalina, metil celulosa, etil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa, dextrina, maltodextrina, maltosa, sacarosa, gelatina, glucosa, goma guar y povidona.

Los agentes disgregantes o antiaglutinamiento son excipientes farmacéuticos que pueden acelerar la disgregación o disolución de la formulación cuando entra en contacto con fluidos biológicos. Los ejemplos de agentes disgregantes o antiaglutinamiento apropiados para la preparación de la composición farmacéutica de esta invención incluyen, pero no están limitados a: ácido algínico, almidones, alginato de sodio, croscarmelosa sodio, glicolato de sodio, carboximetil celulosa de sodio, celulosa microcristalina y crospovidona.

Los lubricantes son excipientes que reducen la fricción entre las partículas en las formulaciones y también disminuyen la fricción entre las partículas y las paredes

del equipo utilizado para prepararlas. Los ejemplos de lubricantes apropiados para la preparación de la composición farmacéutica de esta invención incluyen, pero no están limitados a: estearato de calcio, estearato de magnesio, estearato de zinc, aceite mineral, polietilenglicol, lauril sulfato de sodio, estearil fumarato de sodio, almidón, ácido esteárico, talco y aceite vegetal hidrogenado de tipo I.

Los agentes de suspensión y agentes espesantes son excipientes utilizados en formulaciones para asegurar la estabilidad de sistemas dispersos (por ejemplo, suspensiones y emulsiones) con el objeto de reducir la velocidad de sedimentación de las partículas o disminuir la fluidez de formulaciones líquidas.

Los ejemplos de agentes de suspensión y agentes espesantes apropiados para preparar la composición farmacéutica de esta invención incluyen, pero no están limitados a: goma acacia, agar, ácido algínico, monoestearato de aluminio, bentonita, carbómero, copolímero de carbómero, homopolímero de carbómero, interpolímero de carbómero, carboximetil celulosa de sodio o calcio, carragenina, celulosa microcristalina, dextrina, goma guar, goma gelano, hidroxietil celulosa, hidroxipropilcelulosa, metil celulosa, silicato de aluminio y magnesio, pectina, óxido de polietileno, alcohol polivinílico, povidona, alginato de propilenglicol, alginato de sodio, dióxido de silicio, dióxido de silicio coloidal, almidones (maíz, trigo, patata, tapioca), goma tragacanto y goma xantano.

Los solventes son excipientes empleados para disolver otras sustancias cuando se preparan composiciones líquidas, semisólidas y sólidas, utilizados en las últimas para asegurar un más fácil mezclado y/o proveer una mezcla con una concentración homogénea del ingrediente farmacéuticamente activo o algún otro

excipiente. Los ejemplos de solventes apropiados para la preparación de la composición farmacéutica de esta invención incluyen, pero no están limitados a: agua, etanol, isopropanol, aceites de plantas (maíz, algodón, sésamo, soja), aceite mineral, glicerina, sorbitol y ácido oleico.

Los surfactantes son también conocidos como agentes de modulación de la tensión superficial, y son excipientes con funciones variadas, utilizados como emulsionantes, humectantes y/o agentes de solubilización. Los ejemplos de surfactantes apropiados para la preparación de la composición farmacéutica de esta invención incluyen, pero no están limitados a: cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, cloruro de cetilpiridinio, nonoxinol 9, octoxinol 9, estearato de polioxilo 50, oleil éter de polioxilo 10, cetoestearil éter de polioxilo 20, polioxalato 35 aceite de ricino, polioxalato 40 aceite de ricino hidrogenado, estearato de polioxilo 40, lauril éter de polioxilo, estearil éter de polioxilo, polisorbato 20, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 80, cetoestearil sulfato de sodio, lauril sulfato de sodio, monolaurato de sorbitán, monoleato de sorbitán, monopalmitato de sorbitán, sesquioleato de sorbitán, trioleato de sorbitán, alcohol cetílico, alcohol oleílico, poloxámero, monoestearato de propilenglicol, copolímero o interpolímero de carbómero, colesterol, monoetanolamina, dietanolamina, trietanolamina, estearatos de dietilenglicol, docusato de sodio, estearatos de etilenglicol, diestearatos de glicerilo, monolinoleato de glicerilo, monooleato de glicerilo, monoestearato de glicerilo, alcoholes de lanolina, lecitina, mono y diglicéridos, estearato de sodio, ácido esteárico y ceras emulsionantes.

Los agentes de fluidez, agentes antiaglutinamiento o deslizantes son excipientes utilizados en formulaciones para promover flujo y reducir el aglutinamiento en embudos de conducción de sólidos durante el flujo y procesamiento de polvos. Los ejemplos de agentes de fluidez, agentes antiaglutinamiento o deslizantes apropiados para la preparación de la composición farmacéutica de esta invención incluyen, pero no están limitados a: silicato de calcio, silicato de magnesio, dióxido de silicio coloidal y talco.

Los agentes de recubrimiento son excipientes que pueden ser utilizados con varias funciones, incluyendo enmascaramiento de sabores u olores desagradables, control de la velocidad de liberación de la droga, mejora de la apariencia, facilidad para ser tragados y control de la liberación de la droga en el tracto digestivo (por ejemplo recubrimiento entérico). Los ejemplos de agentes de recubrimiento apropiados para la preparación de la composición farmacéutica de esta invención incluyen, pero no están limitados a: copolímero de metacrilato de amonio, carboximetil celulosa de sodio, acetato ftalato de celulosa, acetato de celulosa, copovidona, etil celulosa y sus dispersiones acuosas, gelatina, barnices farmacéuticos, hidroxipropil celulosa, hidroxipropilmetil celulosa, acetato succinato de hidroxipropil metilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetil celulosa, maltodextrina, copolímero de ácido metacrílico y sus dispersiones, metil celulosa, polietilenglicol, acetato ftalato de polivinilo, shellac, almidón pregelatinizado modificado, sacarosa, dióxido de titanio, cera carnaúba y cera microcristalina.

Los agentes plastificantes son agentes agregados a otros agentes con el objeto de dotarlos con mayor plasticidad y resiliencia (elasticidad). Son componentes importantes para conferir las propiedades físicas requeridas por los sistemas poliméricos. Los ejemplos de agentes plastificantes apropiados para la preparación de la composición farmacéutica de esta invención incluyen, pero no están limitados a: acetil citrato de tributilo, acetil citrato de trietilo, aceite de ricino, monoglicéridos diacetilados, sebacato de dibutilo, sorbitol, dextrina, ftalato de dietilo, glicerina, polietilenglicol, polietilenglicol monometil éter, propilenglicol, benzoato de bencilo, triacetina, citrato de tributilo, citrato de trietilo y clorobutanol. Para administración parenteral, es normal utilizar soluciones isotónicas, que significan soluciones con presión osmótica similar a la de los tejidos con los cuales entran en contacto, con el objeto de evitar hemólisis, reducir dolor y la molestia en la administración. Los ejemplos de agentes de isotonicidad frecuentemente utilizados para asegurar la isotonicidad de la composición farmacéutica de esta invención incluyen, pero no están limitados a: dextrosa, glicerina, manitol, cloruro de sodio y cloruro de potasio.

Los edulcorantes son agentes utilizados para enmascarar sabores desagradables y endulzar las formulaciones orales. Los ejemplos de edulcorantes apropiados para la preparación de la composición farmacéutica de esta invención incluyen, pero no están limitados a: acesulfam potasio, aspartamo, sal acesulfam aspartamo, dextratos, dextrosa, fructosa, galactosa, maltitol, maltosa, manitol, sacarina, sacarina de calcio, sacarina de sodio, sorbitol, sucralosa, sacarosa, azúcar y tagatosa.

El alcance de la composición provista por esta invención también comprende colorantes farmacéuticos que están incluidos en las formas de dosificación, con el objeto de dotar a cada medicación con una apariencia distintiva, asegurando que sea fácil de distinguir una formulación específica entre formulaciones con similares aspectos físicos. Los ejemplos de colorantes farmacéuticos apropiados para uso en la composición de esta invención incluyen: óxido férrico rojo, óxido férrico amarillo, mezclas de óxidos férricos, caramelo, dióxido de titanio, colorantes FD&C y colorantes D&C.

Dependiendo de la vía de administración y las propiedades físicas y químicas inherentes a los compuestos provistos por esta invención, pueden agregarse sustancias a la composición farmacéutica preparada con estos compuestos que pueden estabilizar, conservar, prevenir y/o evitar la degradación prematura de sus ingredientes. Estos excipientes adicionales pueden actuar como antioxidantes, conservantes, reguladores o modificadores del pH. Los ejemplos de excipientes utilizados con estas propiedades que son apropiados para la preparación de la composición farmacéutica provista por esta invención incluyen, pero no están limitados a: ácido ascórbico, ácido sórbico, metabisulfito de sodio, alfa-tocoferol, metilparabeno, propilparabeno, butilparabeno, sulfito de sodio, hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), fenol, alcohol bencílico, cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, cloruro de cetilpiridinio, ácido benzoico, benzoato de sodio, propionato de sodio, ácido bórico y los agentes de control de pH, comprendiendo estos últimos ácidos, bases y buffers

orgánicos e inorgánicos y normalmente utilizados en composiciones farmacéuticas.

La composición farmacéutica que comprende los compuestos provistos por esta invención puede también contener sustancias o ser preparada con: (a) agentes complejantes para enmascarar sabor, mejorar la solubilidad, promover la solubilidad de la formulación y/o modular la biodisponibilidad, y (b) agentes aromatizantes y saborizantes utilizados para corregir o enmascarar olores y sabores desagradables o para conferir olores o sabores agradables. Diversas sustancias y preparaciones están disponibles en el mercado para tales aplicaciones, estando su uso limitado a agentes aprobados, o aquellos que han sido debidamente certificados, que son compatibles con los ingredientes de la composición. Para uso y administración terapéuticos, el compuesto bencimidazol de la presente invención puede ser formulado en composiciones apropiadas para administración oral, parenteral, nasal, rectal, transmucosal y transdérmica, utilizando técnicas convencionales y excipientes apropiados.

No hay restricciones específicas en cuanto a las formas de dosificación que comprenden el compuesto bencimidazol de la invención. Por ejemplo, como un sólido para administración oral las formas de dosificación adecuadas pueden ser tabletas, píldoras, grageas, cápsulas, gránulos, polvos, pellets, liofilizados y presentaciones similares. Como un líquido para administración oral, las formas de dosificación adecuadas pueden ser soluciones, dispersiones, suspensiones, emulsiones, aceites, jarabes, etc. Las formas de dosificación líquidas pueden

ser utilizadas para inyecciones tales como intravenosa, intramuscular, subcutánea e intradérmica.

Otros ejemplos de formas de dosificación comprenden liposomas y nanopartículas, o cualesquiera otros aspectos de administración conocidos para una persona experta en el arte. La forma de dosificación puede proveer liberación inmediata, controlada o demorada del compuesto bencimidazol de la invención.

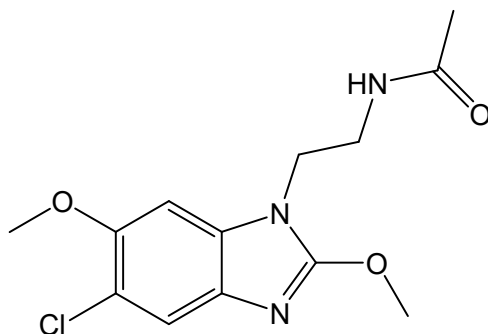
Otro aspecto de la invención son formas de dosificación, como se describe anteriormente, que contienen 0,01 a 5000 mg del compuesto bencimidazol de la invención, por ejemplo, y pueden ser administradas una vez o más veces al día, durante el tratamiento.

En una forma de realización particular, la composición de la invención puede comprender, aparte del compuesto bencimidazol, al menos otro principio activo utilizado para el tratamiento de obesidad, diabetes, enfermedad de hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica, por ejemplo elegido de metformina, insulina y derivados de la misma, sulfonilureas, inhibidores de SGLT-2, inhibidores de DPP4, agonistas de GLP-1, meglitinides, tiazolidindionas, inhibidores de alfa-glucosidasa, agonistas de FXR, agonistas de PPAR, inhibidor de ASK1, antagonistas de CCR2 y CCR5, inhibidores de caspasa, sensibilizadores de insulina y conjugados de ácido cólico-araquídico.

En otras formas de realización, la presente invención se refiere al uso del compuesto de la Fórmula I i) en la fabricación de una composición farmacéutica

o ii) en el tratamiento de obesidad, diabetes, enfermedad de hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica.

En otro aspecto, la invención se relaciona con el método para el tratamiento de obesidad, diabetes, enfermedad de hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica que comprende un compuesto bencimidazol de la Fórmula I:



Fórmula I

o sales, cristales, hidratos, solvatos, prodrogas o metabolitos del mismo farmacéuticamente aceptables.

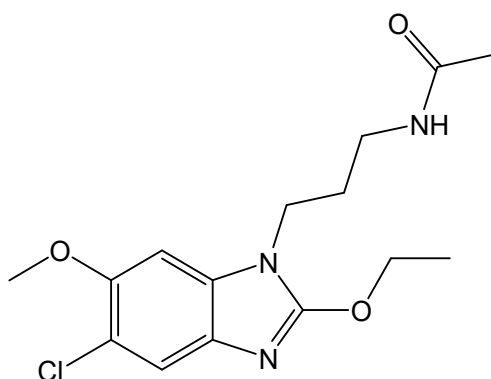
A continuación se presentan ejemplos no exhaustivos para mostrar los efectos del derivado de bencimidazol de la Fórmula I de la presente invención.

EJEMPLOS

Ejemplo 1 - efectos del derivado de bencimidazol de la Fórmula I

Los efectos del derivado de bencimidazol de la Fórmula I fueron evaluados en ratas Sprague Dawley (SD) mantenidas en una dieta de elevadas grasas (HFD), que representa un modelo de obesidad inducida por dieta (DIO) que exhibe alteraciones similares a obesidad, diabetes y enfermedad de hígado graso no alcohólico (NAFLD) en humanos, tales como resistencia a la insulina y

acumulación de triglicéridos en el hígado (van Herck MA et al. (2017). *Animal Models of Nonalcoholic Fatty Liver Disease-A Starter's Guide*. Nutrients. 9(10). pii: E1072; Wang C y Liao JK (2013). *A Mouse Model of Diet-Induced Obesity and Insulin Resistance*. Methods Mol Biol. 821: 421–433). Los efectos del derivado de bencimidazol de la Fórmula I, un agonista más potente de MT1 que de MT2, fueron comparados con N-[3-(5-cloro-2-etoxi-6-metoxi-bencimidazol-1-il)-propil]-acetamida (estructura ilustrada más abajo – Fórmula II), un agonista melatonérgico con mayor potencia en los receptores MT2 que en los de MT1 (es decir, opuestos a los derivados de bencimidazol de la Fórmula I de acuerdo con la presente invención), y con aquellos de dapagliflozina, un inhibidor de SGLT2 que normaliza los niveles de glucosa en sangre y reduce el peso corporal en modelos DIO (Millar P et al. (2017). *Metabolic and neuroprotective effects of dapagliflozin and liraglutide in diabetic mice*. J Endocrinol. 234(3):255-267; Devenny JJ et al. (2012). *Weight loss induced by chronic dapagliflozin treatment is attenuated by compensatory hyperphagia in diet-induced obese (DIO) rats*. Obesity. 20: 1645–1652.).



Fórmula II

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 1,48 (t, J = 7,0 Hz, 3H), 1,94 - 2,01 (m, 5H), 3,24 (q, J = 4,80 Hz, 2H), 3,92 (s, 3H), 3,99 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 4,57 (q, J = 6,8 Hz, 2H), 5,58 (br s, 1H), 6,71 (s, 1H), 7,52 (s, 1H). **¹³C NMR** (125 MHz, CDCl₃) δ ppm 14,74; 23,28; 28,73; 36,91; 39,70; 57,11; 66,48; 93,25; 116,79; 119,10; 132,35; 134,10; 150,67; 157,06; 170,22. **MS (ESI)** m/z calculado C₁₅H₂₀ClN₃O₃: 325,1193; hallado [M + H]⁺ 326,1292.

En el modelo de HFD, los animales fueron inicialmente mantenidos en una HFD durante 4 semanas para inducir una ganancia en peso corporal (BW) significativa antes que el tratamiento fuera iniciado. Los animales en la HFD fueron entonces tratados oralmente una vez al día con el compuesto de la Fórmula I a 10 y 30 mg/kg, con el compuesto de la Fórmula II a 10 y 30 mg/kg o dapagliflozina a 5 mg/kg durante 9 semanas. También se incluyeron dos grupos de control tratados con vehículo, alimentados ya sea con alimento normal (Alimento Vehículo) o bien con HFD (HFD Vehículo). Se evaluaron el BW y la ingesta de alimento (FI) durante el estudio y los resultados se muestran en la Figura 1. Los animales del HFD Vehículo aumentaron constantemente su BW a partir de un promedio de 459,9 g en el día 1 hasta 612,4 g en el día 57. De manera interesante, el tratamiento con el compuesto de la Fórmula I (10 y 30 mg/kg p.o.) redujo significativamente el peso corporal (BW) en los días 13 a 32 (p<0,05) y dapagliflozina (5 mg/kg p.o.) en los días 2 a 48, 50 a 54 y 56 (p<0,05) comparando con los animales de HFD Vehículo (Figura 1A). También se observó una tendencia hacia reducida ganancia de BW desde el día 1 al 57 (Figura 1C) para los animales tratados con el compuesto I a 10 y 30 mg/kg p.o.

($p=0,098$) y dapagliflozina a 5 mg/kg p.o. ($p=0,051$), comparando con HFD Vehículo. En contraste, el tratamiento con el compuesto de la Fórmula II (10 y 30 mg/kg) no tuvo efectos significativos en la ganancia en BW diaria. El compuesto I y compuesto II no afectaron la ingesta de alimento diaria comparando con el grupo HFD Vehículo, aparte de cambios aislados observados para este último (Figuras 1B y 1D). Inversamente, dapagliflozina aumentó significativamente la FI diaria desde el día 8 al 56 ($p<0,05$) y la FI diaria promedio ($p<0,001$) comparando con FHD Vehículo.

El grado de resistencia a la insulina e intolerancia a la glucosa fue evaluado utilizando el método *Homeostatic Model Assessment for Insulina Resistance* (HOMA-IR) (van Dijk TH et al. (2013). Un novedoso enfoque para monitorear el metabolismo de la glucosa utilizando glucosa marcada isotópicamente en estudios longitudinales en ratones. *Lab Anim.* 47(2):79-88.). Se calculó HOMA-IR en base a las concentraciones de insulina y glucosa en plasma en el día 51 después de un ayuno de 4 horas. Los animales de HFD Vehículo tuvieron una glucosa en plasma (+17,6%, $p<0,01$), insulina (+56,4%, $p<0,05$) y HOMA-IR (+79,3%, $p<0,01$) significativamente aumentadas cuando se compara con el grupo Alimento Vehículo (Figura 2). Como se esperaba, dapagliflozina disminuyó significativamente la glucosa en plasma (-21,6% $p<0,001$), insulina en plasma (-56,7%, $p<0,001$) y HOMA-IR en plasma (-66,7%, $p<0,001$) comparando con HFD Vehículo. De manera notable, el compuesto de la Fórmula I también redujo significativamente la glucosa en plasma a la dosis de 10 mg/kg p.o. (-16,4%, $p<0,01$). A la dosis más alta (30 mg/kg p.o.), el compuesto I de acuerdo

con la presente invención redujo significativamente ambos glucosa (-17%, $p<0,01$) y HOMA-IR (-36%, $p<0,01$) en plasma comparando con HFD Vehículo (Figuras 2A y 2C). En contraste, el compuesto comparativo (compuesto II) no alteró glucosa, insulina o HOMA-IR en plasma comparando con HFD Vehículo. Se evaluaron los efectos en la composición corporal y en el peso de tejidos seleccionados (almohadilla de grasa marrón, almohadilla de grasa epidídima, hígado o músculo gastrocnemio) después que el estudio había terminado (días 65/66). Se analizaron los pesos de los tejidos de dos maneras: i) se utilizó el BW en el día 1 como covariable para corregir diferencias en el BW en el comienzo del estudio, o ii) se utilizó el BW terminal (días 65/66) como una covariable para corregir cambios debidos a pérdida de peso (Tabla 3). La dapagliflozina condujo a un significativo aumento en el peso del hígado comparando con HFD Vehículo cuando los datos fueron corregidos para el BW terminal (+10,8%, $p<0,01$). Inversamente, se observó una tendencia hacia la reducción del peso del hígado para ambos grupos de los animales tratados con el derivado de bencimidazol de la Fórmula I en el análisis corregido mediante el BW inicial ($p=0,12$). Aparte de estos cambios, no se observó ningún efecto significativo en el peso de los tejidos seleccionados comparando contra el grupo HFD Vehículo, independientemente de la corrección. La composición corporal fue determinada utilizando un análisis con el analizador de infrarrojo cercano FoodScanTM, el cual evalúa el contenido de agua, proteína y grasa y el peso del cuerpo final (Tabla 4). No se observó ningún efecto del derivado de bencimidazol de la Fórmula I de acuerdo con la presente invención o del compuesto II comparativo en ninguno de los parámetros

evaluados comparando contra el control HFD Vehículo. La dapagliflozina redujo significativamente el peso del cuerpo final comparando con HFD Vehículo ($p<0,05$), pero la composición corporal no fue alterada.

Como solamente el derivado de bencimidazol de la Fórmula I de acuerdo con la presente invención, pero no el compuesto II de bencimidazol comparativo, impactó la ganancia de BW, peso del hígado, niveles de glucosa y HOMA-IR en plasma en el modelo HFD, se evaluaron los efectos específicos del compuesto I en el hígado de los animales, en comparación con los grupos de dapagliflozina y de control. Los animales HFD Vehículo exhibieron un contenido y concentración de triglicéridos en hígado marcadamente aumentado (+473% y +409%, respectivamente) comparando con el control Alimento Vehículo (Figuras 3A y 3B). De manera interesante, los tratamientos con el compuesto de la Fórmula I (10 y 30 mg/kg p.o.) redujeron significativamente el contenido de triglicéridos del hígado (-41,3% y -55,1%, respectivamente, $p<0,05$) y el compuesto I a 30 mg/kg p.o. redujo significativamente la concentración de triglicéridos en hígado en 51,6% ($p<0,01$) comparando con HFD Vehículo. En contraste, el tratamiento con dapagliflozina no redujo significativamente el contenido de triglicéridos hepático, ni la concentración comparando con el control HFD Vehículo. El contenido y concentración de glucógeno del hígado fueron similares en los animales de Alimento Vehículo y HFD Vehículo (Figuras 3C y 3D). El compuesto de la Fórmula I (10 y 30 mg/kg p.o.) redujo significativamente ($p<0,05$) el contenido (en 36,6% y 36,6% respectivamente) y la concentración (en 42,8% y 40,8%, respectivamente) de glucógeno del hígado, comparando con

HFD Vehículo. No se observó ningún efecto de dapagliflozina en el contenido o concentración de glucógeno en hígado comparando con el control HFD Vehículo. También se evaluó el hígado en cuanto a NAFLD mediante análisis histopatológico (Figuras 3E-H). Se seccionaron, tiñeron y puntuaron muestras siguiendo un método previamente descrito (Kleiner DE et al. (2005). *Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease*. Hepatology. 41(6):1313-21; Nishida T et al. (2013). *Spontaneous onset of nonalcoholic steatohepatitis and hepatocellular carcinoma in a mouse model of metabolic syndrome*. Lab Invest. 93(2):230-41). Los parámetros analizados fueron: esteatosis (0-3), inflamación lobular (0-3) e hinchazón del hígado (0-2). El “puntaje total de actividad NAFLD” (NAS) fue calculado como la suma de todos los parámetros (0-8). El hígado de los animales Alimento Vehículo no tenía puntajes patológicos (cero) en cuanto a esteatosis, inflamación lobular, hinchazón del hígado y ningún puntaje para NAS total. Los puntajes patológicos para esteatosis, inflamación lobular y NAS total estaban aumentados significativamente ($p < 0,05$) en el grupo HFD Vehículo, mientras que la hinchazón del hígado no fue significativamente afectada. De manera destacable, el derivado de bencimidazol de la Fórmula I de acuerdo con la presente invención (30 mg/kg p.o.) redujo significativamente ($p < 0,05$) la esteatosis en -57% comparando con el grupo HFD (Figura 3F). También se redujo la inflamación lobular en los animales tratados con el derivado de bencimidazol de la Fórmula I de acuerdo con la presente invención a la dosis de 30 mg/kg, de modo que no era significativamente diferente del control de Alimento Vehículo (Figura 3G). Se

observó también una tendencia hacia la significancia para el valor de NAS total entre este grupo y los animales de HFD Vehículo (Figura 3E, $p=0,126$). Inversamente, no se observó ningún efecto en los parámetros evaluados para las ratas tratadas con dapagliflozina en comparación con el grupo HFD Vehículo.

Tabla 1. Farmacología *in vitro* del derivado de bencimidazol de la Fórmula I en los receptores MT1 y MT2 en comparación con melatonina y el compuesto de la Fórmula II

Compuesto	Agonismo MT1	Agonismo MT2
	EC₅₀ (nM) [I.A. (%)]	EC₅₀ (nM) [I.A. (%)]
Melatonina	0,11 [100]	0,07 [100]
Derivado de bencimidazol de la Fórmula I	0,25 [100]	2,8 [101]
Compuesto comparativo de la Fórmula II	3,4 [121]	0,39 [105]

Se desarrollaron ensayos funcionales celulares en el modo agonista. EC₅₀ – mitad de concentración efectiva máxima. I.A. – Actividad intrínseca.

Tabla 2. Exposición en plasma y cerebro y relación cerebro-a-plasma en ratas Wistar y Sprague Dawley (SD) para el compuesto de la Fórmula I y el compuesto de la Fórmula II

Especies (Dosis)	Tiempo (h)	Concentración en plasma (µg/mL) Concentración en cerebro (µg/g) Relación cerebro-a-plasma	
		Compuesto de la Fórmula I	Compuesto de la Fórmula II
Wistar Han (100 mg/kg)	0,37	30,53 6,39 0,20	54,50 4,40 0,08
	2	45,37 9,42 0,21	48,00 4,88 0,10
	6	30,63 4,65 0,15	39,33 3,62 0,09
SD (10 mg/kg)	0,5	4,00 0,37 0,09	14,75 0,92 0,06
	2	0,24 0,03 0,11	2,08 0,08 0,04
	8	ND ND ND	0,004 ND ND
SD (30 mg/kg)	0,5	17,55 1,82 0,11	35,40 2,02 0,06
	2	7,71 0,91 0,12	24,75 1,23 0,05
	8	0,01 ND ND	0,71 0,03 0,05

Datos medios de 2-3 animales por punto de tiempo. Los compuestos fueron administrados p.o. a ratas Wistar (100 mg/kg) y Sprague Dawley (SD) (10 y 30 mg/kg) y se recolectaron muestras (plasma y cerebro) en puntos de tiempo seleccionados. ND – No determinado debido a concentración en cerebro por debajo del límite inferior de cuantificación (5 ng/g).

Tabla 3. Efecto del compuesto de la Fórmula I y del compuesto comparativo de la Fórmula II en tejido de ratas SD macho mantenidas en HFD

Grupo	Ajuste de datos	Tejido adiposo marrón	Almohadilla de grasa epidídima	Hígado	Gastrocnemio
HFD Vehículo	día 1	0,678 ± 0,053	13,5 ± 1,1	19,9 ± 0,8	3,45 ± 0,10
Dapagliflozina a 5 mg/kg		0,679 ± 0,047	12,2 ± 0,7	20,9 ± 0,5	3,34 ± 0,09
Compuesto de la Fórmula I a 10 mg/kg		0,700 ± 0,091	13,1 ± 1,5	17,7 ± 0,8 #	3,30 ± 0,14
Compuesto de la Fórmula I a 30 mg/kg		0,801 ± 0,066	13,9 ± 1,0	18,6 ± 0,9 #	3,35 ± 0,10
Compuesto de la Fórmula II a 10 mg/kg		0,767 ± 0,067	13,8 ± 1,6	18,4 ± 0,7	3,21 ± 0,12
Compuesto de la Fórmula II a 30 mg/kg		0,751 ± 0,076	13,2 ± 0,8	20,5 ± 0,6	3,39 ± 0,09
HFD Vehículo	día 65/66	0,668 ± 0,052	13,0 ± 1,0	19,5 ± 0,8	3,43 ± 0,10
Dapagliflozina a 5 mg/kg		0,697 ± 0,050	13,0 ± 0,7	21,6 ± 0,3 *	3,37 ± 0,09
Compuesto de la Fórmula I a 10 mg/kg		0,719 ± 0,084	13,9 ± 1,1	18,5 ± 0,5	3,32 ± 0,15
Compuesto de la Fórmula I a 30 mg/kg		0,808 ± 0,062	14,2 ± 1,2	18,9 ± 0,5	3,36 ± 0,10
Compuesto de la Fórmula II a 10 mg/kg		0,760 ± 0,068	13,5 ± 1,6	18,2 ± 0,7	3,21 ± 0,13

Compuesto de la Fórmula II a 30 mg/kg		0,741 ± 0,076	12,8 ± 0,8	20,1 ± 0,5	3,37 ± 0,09
--	--	---------------	------------	------------	-------------

Los datos se muestran como media $\pm$ SEM (n=9-10). Las medias fueron ajustadas en cuanto a diferencia de BW entre los grupos de tratamiento en el día 1 o días 65/66 (terminación del estudio). La SEM fue calculada a partir de los residuos del modelo estadístico. El compuesto de la Fórmula I, compuesto de la Fórmula II, dapagliflozina y vehículo fueron administrados a animales alimentados con alimento normal o HFD y se evaluaron parámetros después de la terminación. Los datos fueron analizados mediante ANCOVA con tratamiento y cohorte como factores y BW en el día 1 o peso del cuerpo final como covariables (para ajuste de datos en cuanto a BW en el día 1 o día 65/66, respectivamente). Se compararon los grupos de tratamiento con HFD Vehículo mediante ensayos de Williams separados (Compuesto I y compuesto II) o pruebas t múltiples (dapagliflozina) y las diferencias estadísticamente significativas están indicadas mediante ** (p<0,01). # (p=0,12) significa una tendencia hacia la significancia en comparación con HFD Vehículo.

Tabla 4. Efecto del derivado de bencimidazol de la Fórmula I y del compuesto comparativo de la Fórmula II en la composición corporal de ratas SD macho mantenidas en HFD

Grupo	Peso del cuerpo final (g)	Agua (%)	Grasa (%)	Proteína (%)
HFD Vehículo	591,9 ± 3,7 ††	57,2 ± 0,9 †	19,3 ± 1,2 ††	19,5 ± 0,3 ††
Dapagliflozina a 5 mg/kg	564,5 ± 9,4 * †	58,9 ± 1,0	16,8 ± 1,3	20,6 ± 0,4
Compuesto I a 10 mg/kg	561,7 ± 13,0	56,1 ± 1,2 †	20,5 ± 1,5 †	19,7 ± 0,4
Compuesto I a 30 mg/kg	584,0 ± 13,6	56,5 ± 1,4 †	20,0 ± 1,7 †	19,6 ± 0,5 †
Compuesto II a 10 mg/kg	587,6 ± 6,3 †	56,0 ± 1,8 †	20,8 ± 2,3 ††	19,2 ± 0,6 ††
Compuesto II a 30 mg/kg	593,3 ± 11,4 ††	58,4 ± 1,9	17,9 ± 2,3 †	19,8 ± 0,5

Se muestran los datos como medias ajustadas ± SEM (n=9-10). La SEM fue calculada a partir de los residuos del modelo estadístico. El análisis fue mediante regresión robusta de datos con tratamiento como un factor y BW en el día 1 como covariable. Los grupos de tratamiento fueron comparados con HFD Vehículo mediante ensayos de Williams separados (Compuesto I y compuesto II) o pruebas t múltiples (dapagliflozina) y las diferencias estadísticamente significativas están indicadas mediante * (p<0,05). Las comparaciones contra Alimento Vehículo fueron mediante pruebas t múltiples (grupos HFD Vehículo y

dapagliflozina) o ensayo de Dunnett (Compuesto I y compuesto II) y las diferencias estadísticamente significativas están indicadas mediante † ($p < 0,05$) y †† ($p < 0,01$).