



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 316 568**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/662** (2006.01)  
**A61P 9/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02733745 .0**  
96 Fecha de presentación : **28.05.2002**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1390045**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.02.2004**

54 Título: **Uso de un compuesto con un dominio cargado negativamente de radicales que contiene fósforo para el tratamiento de reestenosis.**

30 Prioridad: **28.05.2001 SE 2001101854**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.04.2009**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.04.2009**

73 Titular/es: **Bioneris AB.**  
**c/o IAM Strategic S.A. Filial Sverige**  
**Box 3326**  
**103 66 Stockholm, SE**

72 Inventor/es: **Siren, Matti, Juhani**

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

**ES 2 316 568 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Uso de un compuesto con un dominio cargado negativamente de radicales que contiene fósforo para el tratamiento de reestenosis.

5 La presente invención se relaciona con el uso de un compuesto que contiene un dominio cargado negativamente de alta densidad de por lo menos tres radicales que contienen fósforo orientados vecinalmente para la preparación de un medicamento para evitar, aliviar o combatir la reestenosis en mamíferos que incluyen humanos.

10 Los procedimientos que involucran el uso de catéteres de dilatación de balón, injertos y otros dispositivos de intervención suministrados percutáneamente que funcionan comúnmente en pacientes con enfermedades cardíacas coronarias (CHD). La angioplastia con balón es la estrategia de elección en la mayoría de casos y el procedimiento es seguido frecuentemente por injerto. A pesar del hecho de que los centros que se encargan de tales procedimientos están equipados y tienen personal apropiado la reestenosis, es decir la reoclusión de los vasos ocurren en 30-50% de los pacientes tratados.

15 En 1995 se llevan a cabo casi 300.000 intervenciones coronarias percutáneas en Europa y en la cifra correspondiente para USA es aproximadamente 500.000 y éstas figuras continúan incrementándose a nivel mundial. En los Estados Unidos se desarrollan otros 500.000 procedimientos de bypass arterial coronario. El costo promedio es más de 20.000 USD por procedimiento. El costo para el sistema de salud para repetir procedimientos de angioplastia para tratar reestenosis se estima que excede los 2.5 miles de millones anuales.

20 Se considera que la reestenosis es una de las principales limitaciones de la angioplastia coronaria transluminal percutánea. Los factores de riesgo para el desarrollo de reestenosis son multifactoriales y en su mayoría desconocidos. Los factores de riesgo arteroesclerótico tradicionales tal como hipertensión, fumar y el colesterol no se han asociado con la reestenosis. El mecanismo para el proceso de reestenosis involucra muchos factores que incluyen vasoconstricción, migración y proliferación de células musculares lisas, la liberación de sustancias reguladoras tal como factores de crecimiento, síntesis de matrices extracelulares, formación neointimal, y remodelamiento de vasos.

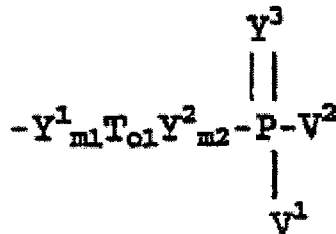
25 En un esfuerzo para detener la reestenosis se han investigado más de 50 fármacos pero ninguno ha mostrado ser eficiente. Como un compuesto utilizado comúnmente, se administra heparina durante los procedimientos con el fin de contrarrestar las complicaciones relacionadas para incrementar la coagulación pero se acumula evidencia hacia la dirección que la heparina puede promover el proceso de reestenosis.

30 De acuerdo con la presente invención se ha encontrado sorprendentemente posible utilizar un compuesto que contiene un dominio cargado negativamente, de alta densidad de por lo menos tres radicales que contienen fósforos orientados vecinalmente para la preparación de un medicamento para la prevención, alivio o combatir la reestenosis en mamíferos que incluye humanos.

35 Adicionalmente la invención describe el uso de un compuesto que contiene un dominio cargado negativamente de alta densidad de por lo menos tres radicales que contienen fósforos orientados vecinalmente para la preparación de un medicamento para prevenir, aliviar o combatir epilepsia, remodelamiento e hipertrofia en mamíferos incluyendo humanos.

40 La invención también se relaciona con un compuesto en donde los radicales que contienen fósforo tienen la siguiente fórmula:

a)





## ES 2 316 568 T3

ciclodecilo, cicloundecilo, ciclododecilo, cicloridecilo, ciclotetradecilo, ciclopentadecilo, ciclohexadecilo, cicloheptadecilo, ciclooctadecilo, ciclounadecilo, cicloeicosilo, cicloheneicosilo, ciclodoicosilo, adamantilo, ciclopropeno, ciclobuteno, ciclopenteno, ciclohexeno, ciclohepteno, cicloocteno, ciclounoneno, ciclodeceno, fenilo, bifenilo, naftilo, hidroxifenilo, aminofenilo, mercaptofenilo, fluorofenilo, clorofenilo, azidofenilo, cianofenilo, carboxifenilo, alcoxifenilo, aciloxifenilo, acilfenilo, oxirano, tiirano, aziridino, oxetano, tietano, azetidino, tetrahydrofurano, tetrahydrotiofeno, pirrolidino, tetrahydropirano, tetrahydrotiopirano, piperidino, quinuclidino, dioxano, ditanilo, trioxano, furilo, pirrolilo, tienilo, piridilo, quinolilo, benzofurilo, indolilo, benzotieno, oxazolilo, imidazolilo, tiazolilo, piridazino, pirimidilo, pirazino, purinilo o un carbohidrato.

10 Sustituyentes se pueden seleccionar del grupo de:

hidroxi, alcoxi, ariloxi, aciloxi, carboxi, alcocarbonilo, alcocarboniloxi, ariloxicarbonilo, ariloxicarboniloxi, carbamoilo, fluoro, cloro, bromo, azido, ciano, oxo, oxa, amino, imino, alquilamino, arilamino, acilamino, nitro, alquiltio, alquilsulfonilo.

15 Adicionalmente la invención se relaciona con el uso en donde los radicales que contienen fósforo tienen la siguiente fórmula:



en donde  $V^1$  y  $V^2$  son OH,  $(\text{CH}_2)_p$  OH, COOH, CONH<sub>2</sub>, CONOH,  $(\text{CH}_2)_p$  COOH,  $(\text{CH}_2)_p$  CONH<sub>2</sub>,  $(\text{CH}_2)_p$  CONOH,  $(\text{CH}_2)_p$  SO<sub>3</sub> H,  $(\text{CH}_2)_p$  SO<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>,  $(\text{CH}_2)_p$  NO<sub>2</sub>,  $(\text{CH}_2)_p$  PO<sub>3</sub> H<sub>2</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> OH, O(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> COOH, O(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> CONH<sub>2</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> CONOH,  $(\text{CH}_2)_p$  SO<sub>3</sub> H, O(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> SO<sub>3</sub> NH<sub>2</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> NO<sub>2</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>p</sub> PO<sub>3</sub> H<sub>2</sub>, CF<sub>2</sub>COOH y p es 1 a 4.

En esta modalidad de la invención los radicales que contienen fósforo son fosfonatos o fosfatos o sus derivados.

35 En una modalidad de la invención la estructura para la región cargada negativamente de alta densidad de radicales orientados vecinalmente es un grupo funcional cíclico.

El grupo funcional cíclico comprende un grupo funcional homo- o heterocíclico aromático o no aromático saturado o insaturado. Cuando el grupo funcional es heterocíclico los heteroátomos se seleccionan del grupo de oxígeno, nitrógeno, azufre o selenio.

40 Preferiblemente el grupo funcional cíclico comprende 4 a 24 átomos, más preferiblemente 5 a 18 átomos. El grupo funcional cíclico se selecciona por ejemplo del grupo de ciclopentano, ciclohexano, cicloheptano, ciclooctano, inositol, monosacárido, disacárido, trisacárido, tetrasacárido, piperidina, tetrahydrotiopirano, 5-oxotetrahydrotiopirano, 5,5-dioxotetrahydrotiopirano, tetrahydroselepiro, tetrahydrofurano, pirrolidina, tetrahydrotiofeno, 5-oxotetrahydrotiofeno, 5,5-dioxotetrahydrotiofeno, tetrahydroselepiro, benceno, cumeno, mesitileno, naftaleno y fenantreno. Cuando el grupo funcional es un inositol éste se debe seleccionar del grupo de aloinositol, cisinisitol, epiinositol, D/L-quiuroinositol, sciloinositol, mioinositol, mucuinositol y neoinositol.

En una modalidad preferida de la invención los compuestos son fosfatos, fosfonatos o fosfinatos de ciclohexano tal como 1,2,3-β-ciclohexano-1,2,3-trioltrisfosfato.

En otras modalidades preferidas de este tipo de la invención los compuestos son fosfatos, fosfonatos o fosfinatos de inositol. El número de radicales de fosfato, fosfonato o fosfinato por grupo funcional de inositol es de por lo menos tres. Los grupos hidroxilo restantes en el grupo funcional inositol se pueden derivar en la forma de éteres o ésteres.

55 En una modalidad preferida el compuesto es mio-inositol-1,2,6-trisfosfato o mio-inositol-1,2,3-trisfosfato.

En una modalidad más preferida los compuestos se seleccionan del grupo de D-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato, D-mio-inositol-1,2,6-tris(carboximetilfosfato), D-mio-inositol-1,2,6-tris(carbometilfosfonato), D-mio-inositol-1,2,6-tris(hidroximetilfosfonato), D-3,4,5-tri-O-metil-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato, D-3,4,5-tri-O-hexanoil-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato, D-3,4,5-tri-O-butanoil-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato, D-3,4,5-tri-O-pentanoil-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato, D-3,4,5-tri-O-isobutanoil-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato, D-3,4,5-tri-O-propanoil-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato, D-3,4,5-tri-O-(6-hidroxi-4-oxa)hexanoil-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato, D-3,4,5-tri-O-3-(etilsulfonil)propanoil-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato, D-3,4,5-tri-O-3-hidroxi-propanoil-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato, D-3,4,5-tri-O-(6-hidroxi)-hexanoil-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato, D-5-O-hexanoil-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato, D-3,4,5-tri-O-fenilcarbamoil-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato, D-3,4,5-tri-O-propanoil-mio-inositol-1,2,6-tris(carboximetilfosfato), D-3,4,5-tri-O-butanoil-mio-inositol-1,2,6-tris(carboximetilfosfato), D-3,4,5-tri-O-pentanoil-mio-inositol-1,2,6-tris(carboximetilfosfato), D-3,4,5-tri-O-hexanoil-mio-inositol-1,2,6-

tris(carboximetilfosfato), D-3,4,5-tri-O-propanoil-mio-inositol-1,2,6-tris(carboximetilfosfonato), D-3,4,5-tri-O-butanoil-mio-inositol-1,2,6-tris(carboximetilfosfonato), D-3,4,5-tri-O-isobutanoil-mio-inositol-1,2,6-tris(carboximetilfosfonato), D-3,4,5-tri-O-pentanoil-mio-inositol-1,2,6-tris(carboximetilfosfonato), D-3,4,5-tri-O-propanoil-mio-inositol-1,2,6-tris(hidroximetilfosfonato), D-3,4,5-tri-O-butanoil-mio-inositol-1,2,6-tris(hidroximetilfosfonato), D-3,4,5-tri-O-isobutanoil-mio-inositol-1,2,6-tris(hidroximetilfosfonato), D-3,4,5-tri-O-pentanoil-mio-inositol-1,2,6-tris(hidroximetilfosfonato), D-3,4,5-tri-O-hexanoil-mio-inositol-1,2,6-tris(hidroximetilfosfonato).

Cuando el grupo funcional cíclico un sacárido éste se puede seleccionar del grupo de D/L-ribosa, D/L-arabinosa, D/L-xilosa, D/L-lixosa, D/L-alosa, D/L-altrosa, D/L-glucosa, D/L-mannosa, D/L-gulosa, D/L-idosa, D/L-galactosa, D/L-talosa, D/L-ribulosa, D/h-xilulosa, D/L-psicosa, D/L-sorbosa, D/L-tagatosa y D/L-fructosa o sus derivados. En modalidades preferidas de este tipo de la invención los compuestos son fosfatos, fosfonatos o fosfinatos de sacáridos. El número de radicales fosfato, fosfonato o fosfinato por unidad de sacárido es por lo menos tres. Los grupos hidroxilo restantes en el grupo funcional sacárido se pueden derivar en forma de éteres o ésteres. En muchos casos, la forma éter se desea ya que éste tipo de radical prolonga la estabilidad y la vida media *in vivo* ya que se reduce la susceptibilidad de la degradación enzimática.

En una modalidad preferida de este tipo de la invención el compuesto se selecciona del grupo de mannososa-2,3,4-trisfosfato, galactosa-2,3,4-trisfosfato, fructosa-2,3,4-trisfosfato, altrosa-2,3,4-trisfosfato y ramnosa-2,3,4-trisfosfato. En una modalidad más preferida el compuesto se selecciona del grupo de R<sup>1</sup>-6-O-R<sup>2</sup>- $\alpha$ -D-manno-piranosida-2,3,4-trisfosfato, R<sup>1</sup>-6-O-R<sup>2</sup>- $\alpha$ -D-altropiranosida-2,3,4-trisfosfato y R<sup>1</sup>-6-O-R<sup>2</sup>- $\beta$ -D-fructopiranosida-2,3,4-trisfosfato donde R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> independientemente son como se definió anteriormente y preferiblemente son metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo o hexilo. Compuestos más preferidos en este tipo de la invención son metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-mannopiranosida-2,3,4-trisfosfato, metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-galactopiranosida-2,3,4-trisfosfato, metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-glicopiranosida-2,3,4-trisfosfato, metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-altropiranosida-2,3,4-trisfosfato, metil-6-O-butil- $\beta$ -D-fructopiranosida-2,3,4-trisfosfato, 1,5-anhidro-D-arabinitol-2,3,4-trisfosfato, 1,5-anhidroxilitol-2,3,4-trisfosfato, 1,2-O-etileno- $\beta$ -D-fructopiranosida-2,3,4-trisfosfato, metil- $\alpha$ -D-ramno-piranosida-2,3,4-trisfosfato, metil- $\alpha$ -D-mannopiranosida-2,3,4-trisfosfato, metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-mannopiranosida-2,3,4-tris(carboximetilfosfato), metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-mannopiranosida-2,3,4-tris(carboximetilfosfonato), metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-mannopiranosida-2,3,4-tris(hidroximetilfosfonato), metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-galactopiranosida-2,3,4-tris(carboximetilfosfato), metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-galactopiranosida-2,3,4-tris(carboximetilfosfonato), metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-galactopiranosida-2,3,4-tris(hidroximetilfosfonato), metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-glucopiranosida-2,3,4-tris(carboximetilfosfato), metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-glucopiranosida-2,3,4-tris(carboximetilfosfonato), metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-glucopiranosida-2,3,4-tris(hidroximetilfosfonato), metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-altropiranosida-2,3,4-tris(carboximetilfosfato), metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-altropiranosida-2,3,4-tris(carboximetilfosfonato), metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-altropiranosida-2,3,4-tris(hidroximetilfosfonato), metil-6-O-butil- $\beta$ -D-fructopiranosida-2,3,4-tris(carboximetilfosfato), metil-6-O-butil- $\beta$ -D-fructopiranosida-2,3,4-tris(carboximetilfosfonato), metil-6-O-butil- $\beta$ -D-fructopiranosida-2,3,4-tris(hidroximetilfosfonato).

En otras modalidades preferidas de la invención los compuestos son fosfatos, fosfonatos, o fosfinatos de grupos funcionales heterocíclicos tal como 1,5-dideoxi-1,5-iminoarabinitol-2,3,4-trisfosfato, 1,5-dideoxi-1,5-iminoarabinitol-2,3,4-tris(carboximetilfosfato), 1,5-dideoxi-1,5-iminoarabinitol-2,3,4-tris(carboximetilfosfonato), 1,5-dideoxi-1,5-iminoarabinitol-2,3,4-tris(hidroximetilfosfonato), 1,5-dideoxi-1,5-imino-N-(2-feniletil)arabinitol-2,3,4-trisfosfato, 1,5-dideoxi-1,5-imino-N-(2-feniletil)arabinitol-2,3,4-tris(carboximetilfosfato), 1,5-dideoxi-1,5-imino-N-(2-feniletil)arabinitol-2,3,4-tris(carboximetilfosfonato), 1,5-dideoxi-1,5-imino-N-(2-feniletil)arabinitol-2,3,4-tris(hidroximetilfosfonato).

Dentro del proceso de reestenosis se libera un número de sustancias reguladoras. Una categoría de sustancias son los factores de crecimiento y la actividad de ésta sustancias se considera que promueven la formación neointimal y la hiperplasia. La dimerización inducida por ligandos es un evento clave en la señalización de transmembrana por receptores con actividad tiroxina quinasa. A diferencia de otros factores de crecimiento al como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) que son diméricos, los factores de crecimiento de fibroblastos (FGF) son monoméricos y son incapaces por ellos mismo de inducir la activación de los receptores FGF. De acuerdo con lo anterior, la función FGF en relación por ejemplo con heparina que induce dimerización y posterior activación que conduce a por ejemplo inducción de factores de transcripción similares al factor 1 de respuesta de crecimiento anticipada (Egr-1). Se ha hecho hipótesis que el Egr 1 puede jugar un papel regulatorio clave al ligar estímulos nocivos para la inducción de genes que dirigen la expresión de moléculas efectoras en células endoteliales, células de un músculo liso, fibroblastos y leucocitos.

Tal un complejo entre factor 2 de crecimiento de fibroblastos (FGF2) y su receptor 1 de ocurrencia natural (FGFR1) se ha determinado estructuralmente y se puede observar que un cañón cargado positivamente formado por un grupo de residuos de aminoácidos representan el sitio de unión a heparina. Un tipo de actividad de los compuestos descritos de acuerdo con la invención es reemplazar o tomar el lugar de la heparina en este dominio y por lo tanto actuar como un agente bloqueador de los receptores de crecimiento de fibroblastos. La consecuencia de esta actividad es contrarrestar la dimerización y la posterior activación, que conduce a una regulación descendente de los efectos perjudiciales de sustancias liberadas y por lo tanto una detención en el proceso de la reestenosis. Adicionalmente, otra actividad de los compuestos de acuerdo con la presente invención es afectar el remodelamiento vascular que es un factor importante en el proceso de reestenosis. El remodelamiento se caracteriza por el engrosamiento y alargamiento de las células y tejidos exinjertos. La geometría de los vasos tal como las arterias puede cambiar normalmente en respuesta a

## ES 2 316 568 T3

alteraciones en el ambiente local pero el proceso de remodelamiento contrarresta esta respuesta compensatoria. En respuesta al trauma el tejido tal como adventicia, que sufre un proceso de reparación en el que los fibroblastos se cambian en miofibroblastos. Este proceso es seguido por deposición de matriz extracelular y resulta en remodelamiento geométrico del tejido. La regulación ascendente de la expresión del gen metaloproteínasa de matriz o colagenasa intersticial y la regulación descendente de la síntesis de colágeno u otros casos vistos en los procesos de remodelamiento y reestenosis. Cuando se administran de los compuestos de acuerdo con la invención, un efecto es que el proceso de remodelamiento se contrarresta evidenciado por una transformación disminuida de fibroblastos en miofibroblastos, efectos positivos en la síntesis de colágeno y reducción de la deposición de matriz extracelular. Adicionalmente, se observa una elasticidad mejorada de los tejidos y vasos que muestra un efecto positivo en la estructura citoesquelética de los vasos. Ocurre hipertrofia de corazón en respuesta al efecto de tensión de las paredes cardíacas en la estructura citoesquelética de los vasos. Ocurre hipertrofia de corazón en respuesta a la tensión de las paredes cardíacas inducidas por presión o sobrecarga de volumen. El resultado son cambios morfológicos, moleculares y funcionales que se observan como incrementos en el contenido de proteína, incremento en el tamaño celular y así sucesivamente. Estos efectos se contrarrestan mediante el uso de los compuestos de acuerdo con la presente invención.

La invención está destinada a ser utilizada para preparar un medicamento para prevenir, aliviar o combinar daños relacionados con cirugía y trasplante de órganos y tejidos. En estos casos es benéfico administrar los compuestos antes, durante o después de la cirugía o trasplante. Los efectos de los compuestos también efectúan contracción de heridas y modifican la formación de cicatriz en relación con por ejemplo cirugía y trasplante con el fin de mejorar el resultado quirúrgico. La administración de los compuestos será benéfica por ejemplo en relación con operaciones de bypass.

Adicionalmente, la administración de los compuestos puede estar en relación con la colocación de un material injerto, ya sea por deposición de los compuestos del material injerto o por un suministro local a la lesión.

De acuerdo con la invención los compuestos están más frecuentemente presentes en una forma de sal o en una forma en donde sólo se protonan unas pocas cargas negativas. La sal puede contener uno o más cationes en diferentes combinaciones. Ejemplos de cationes son iones de sodio y potasio.

La composición farmacéutica de acuerdo con la invención se puede administrar oralmente, tópicamente, parenteralmente, rectalmente o por inhalación de aerosol en formas de dosificación o formulaciones que comprenden portadores farmacéuticamente aceptables no tóxicos, convencionales, adyuvantes y vehículos.

La composición farmacéutica para uso oral puede estar presente en diferentes formas tal como cápsulas, gránulos, comprimidos, pastillas, lozenges, suspensiones acuosas, polvos dispensables, emulsiones, jarabes o elixires. Cuando la composición está presente en forma líquida se utiliza preferiblemente cápsulas. En el uso de gránulos, éstos tienen preferiblemente un tamaño de 0,15-2 mm. Los gránulos pueden consistir de la composición farmacéutica *per se* o de la composición y rellenos adecuados. Cuando la composición farmacéutica se utiliza en una forma de comprimido, los comprimidos pueden tener un peso de 50-1500 mg, preferiblemente 50-800 mg y más preferiblemente 100-500 mg.

Las formulaciones para uso oral incluyen comprimidos, que contienen los ingredientes activos en una mezcla con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tal como carbonato de calcio, cloruro de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegración, por ejemplo almidón de papa o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina o acacia; y agentes de lubricación, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden ser no recubiertos o se pueden recubrir por técnicas conocidas para retrasar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal y evitar por lo tanto una acción sostenida durante un largo período de tiempo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retraso en el tiempo tal como monoestearato de glicerilo y estearato de glicerilo. Las formulaciones para uso oral también pueden estar presentes como cápsulas de gelatina dura en donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en donde el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio aceitosos, por ejemplo, aceite de maní, parafina líquida o aceite de oliva.

Para la aplicación parenteral de la composición de ésta invención, las formas de dosificación típica incluyen formulaciones intravenosas, intramusculares e intraperitoneales.

Para la aplicación rectal de la composición de esta invención, las formas de dosificación típicas incluyen supositorios, cápsulas de gelatina rectal (soluciones y suspensiones), y enemas o microenemas (soluciones y suspensiones). Así, en una formulación de supositorio típica, uno cualquiera de los compuestos de ésta invención se combina con cualquier base para supositorio farmacéuticamente aceptable tal como manteca de cacao, ácidos grasos esterificados, gelatina glicerínada y varias bases dispersables o solubles en agua como polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán polioxitileno. Varios aditivos similares a salicilatos o materiales tensoactivos se pueden incorporar.

Para uso tópico, cremas como ungüentos, geles, soluciones o similares que contienen las composiciones se emplean de acuerdo con los métodos reconocidos en la técnica.

Naturalmente, el rango de dosificación terapéutico para los compuestos de la presente invención variará con el tamaño y necesidad del paciente y la afección particular o síntoma de la enfermedad que se trata.

## ES 2 316 568 T3

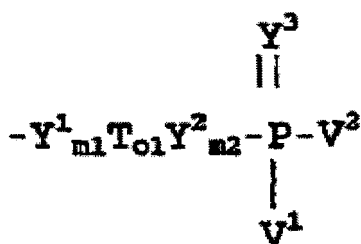
La administración de la composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede ser una forma de dosificación combinada o en formas de dosificación separadas.

Para la administración a pacientes humanos las dosificaciones apropiadas se pueden determinar de forma rutinaria por aquellos expertos en esta técnica por la extensión de los resultados obtenidos en animales en varias dosificaciones. La dosificación preferida para los humanos está dentro del rango de 0, 1 a 100 mg de compuesto por día y kg de peso corporal, especialmente 0,1 a 50 mg/día/kg de peso corporal.

De acuerdo con la presente invención se describe un proceso para prevenir, aliviar o combatir la reestenosis al utilizar un compuesto que contiene un dominio cargado negativamente de alta densidad de por lo menos tres radicales que contienen fósforo orientados vecinalmente.

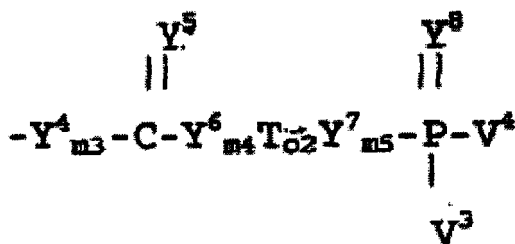
La invención también se relaciona con un proceso en donde un compuesto que contiene radicales que contienen fósforo con la siguiente fórmula se utiliza como se describe anteriormente:

a)



o

b)



La invención se explicará adicionalmente con la siguiente modalidad de ejemplo sin embargo sin limitarse a ellas.

Ejemplos 1 y 2 describen los efectos contrarrestantes del D-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato (IP<sub>3</sub>) y D-3,4,5-tri-O-(fenilcarbamoil)mio-inositol-1,2,6-trisfosfato (PP 11-201) en la proliferación de células de músculo liso. Ejemplo 3 y 4 muestran el efecto inhibitor del D-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato (IP<sub>3</sub>) y D-3,4,5-tri-O-(fenilcarbamoil)mio-inositol-1,2,6-trisfosfato (PP 11-201) en la formación de neointima. El Ejemplo 5 describe la interacción entre el complejo de el Factor 2 de Crecimiento de Fibroblasto-Receptor 1 de Factor de Crecimiento de Fibroblastos (FGF2 - FGFR1) y D-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato.

### Ejemplo 1

La proliferación de células de músculo liso vasculares contribuye a la reestenosis después de angioplastia coronaria. Células de músculo liso de arteria pulmonar humana (HPASMC) se mantiene en Medio 231 complementado con Complemento de Crecimiento de Músculo Liso. Las células, el medio y el suplemento se obtienen de Cascade Biologics Inc., Portland, OR, USA.

Las células se hacen crecer en cultivos monocapa en platos de cultivo de tejido plástico de 100-mm de diámetro (Nunc, Roskilde, Dinamarca) con 10 ml de medio a 37°C en una atmósfera húmeda de 95% aire y 5% CO<sub>2</sub> y subcultivada en intervalos de 4 a 6 días. Para medición del crecimiento celular se siembran las células en densidad 5,0\*10<sup>3</sup>/pozo en platos de 96 pozos en DMEM +0,2% FBS durante 3 días. Luego se remueve el medio de cultivo y se siembran las células en DMEM + 0,2% FBS con 1 nM de factor de crecimiento de fibroblasto básico (FGF2). La adición de FGF2 induce la proliferación del HPASMC. El FGF2 utilizado es una sustancia humana recombinante de Boehringer Mannheim Bioquímica, Espoo, Finlandia. Se agregan varias concentraciones de D-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato (IP<sub>3</sub>) y el número de pozos paralelos en cada tratamiento es cuatro. La proliferación de células se analiza

## ES 2 316 568 T3

después de 24 horas de incubación al marcar cada pozo con 0,2  $\mu\text{Ci}$  de  $^3\text{H}$ -timidina durante dos horas. Después las células se tripsinizan y se cosechan sobre un filtro. El centellador Melt-on (Meltilex<sup>TM</sup> A; Wallac, Turku, Finlandia) se le permite fundir sobre el filtro. La radioactividad de las láminas se cuenta sobre un contador de centelleo líquido (1450 Microbeta Wallac, Turku, Finlandia).

La adición de FGF2 incrementa significativamente la incorporación de  $^3\text{H}$ -timidina en ADN en HPASMC, que es la medición de la proliferación de las células. La estimulación de proliferación se inhibe por la adición de  $\text{IP}_3$  con el siguiente resultado:

Sustancia	concentración( $\mu\text{M}$ )	inhibición (%)
$\text{IP}_3$	1	61
	10	44
	100	68

El experimento muestra que hay un fuerte efecto en  $\text{IP}_3$  para inhibir la proliferación estimulada en células de músculo liso.

### Ejemplo 2

En un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 1, se agrega D-3,4,5-tri-O-(fenilcarbamoil) mio-inositol-1,2,6-trisfosfato (PP 11-201) con el resultado mostrado adelante:

Sustancia	concentración ( $\mu\text{M}$ )	inhibición (%)
PP 11-201	0,1	49
	1,0	61
	10	70

El experimento muestra que hay un efecto del PP 11-201 para inhibir la proliferación estimulada de células de músculo liso.

### Ejemplo 3

Se evalúa el efecto sobre la formación de neointima después de inducir lesión de vasos en ratas con un catéter de balón. La formación de neointima es una parte importante en el proceso de reestenosis. Se alojan ratas Wistar adultas macho (250-260 g) bajo condiciones estándar y se alimentan con concentrado para rata comercial y agua a voluntad. Durante el experimento se administra D-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato ( $\text{IP}_3$ ) por vía de minibombas osmóticas operadas subcutáneamente con un nivel de dosis de 1 mg/kg/hr. Un grupo de control recibe solución salina por minibombas osmóticas. Los animales se anestesian con una inyección peritoneal de cetamina, 100 mg/kg, (MTC Pharmaceuticals, Cambridge, Ontario, Canada) y xilazina, 10 mg/kg (Bayer Inc., Etobicoke, Ontario, Canada). Utilizando un microscopio para disección, se expone la arteria carótida izquierda sobre el costado ventral del cuello por vía de incisión en línea media. Se localiza la bifurcación de la arteria carótida y se colocan dos ligaduras alrededor de la arteria carótida externa, y luego se ata con ligadura distal. Después de ocluir temporalmente la arteria carótida interna con una grapa vascular, se hace una incisión pequeña entre las dos ligaduras colocadas alrededor de la arteria carótida externa para introducir el dispositivo de denudación endotelial, y catéter de embolectomía inflado French Fogarty (Baxter Healthcare, Buckinghamshire, UK). Cada animal se endotelializa por tres pasajes del catéter y la arteria carótida se ata próxima al agujero de la incisión. Se remueve la grapa y el pulso de la arteria carótida se vuelve a revisar. La incisión a la piel se cierra con una sutura única. 14 días post operación se sedan los animales. Se hace incisión abdominal para tener acceso a la aorta abdominal para inserción de una cánula conectada a un aparato de perfusión. Se sacrifican los animales con una sobredosis de anestésico y luego se perfusiona con solución salina amortiguada con fosfato heparinizada (pH 7,4) a una proporción de 100 ml/min por kg de peso corporal y una presión de 120 mm Hg. Después del reemplazo de solución salina, se introduce 4% de paraformaldehído en solución salina isotónica a la misma velocidad de flujo. Después de la fijación *in situ*, se disectan carótidas libres. Tres segmentos de carótida media, aproximadamente 10 mm de largo se enjuagan y se colocan en 4% de paraformaldehído durante otras 16 horas antes de embeber y congelar en medio Tejido-Tek OCT (Miles Inc., Elkhart, Indiana, USA). Las secciones congeladas se tiñen con pentacromo de Movat y se ejecuta inmunohistoquímica utilizando anticuerpos con el fin de examinar el proceso de reestenosis mediante la medición de la formación de neointima. Se observa que la administración de  $\text{IP}_3$  reduce la formación como se puede ver en la siguiente tabla:

## ES 2 316 568 T3

Sustancia formación Neointima (mm<sup>2</sup>) Reducción (%)

Control 1,12

IP<sub>3</sub> 0,48 57

El experimento muestra que la administración del IP<sub>3</sub> reduce la formación de neointima con 57%, que describe un efecto benéfico contra la reestenosis. Mediante la investigación microscópica se puede observar que la elasticidad de las paredes de los vasos se mejora en los animales que reciben IP<sub>3</sub> comparado con las paredes de los vasos de grupo de control que muestra un efecto positivo en remodelamiento.

### Ejemplo 4

En un procedimiento similar a aquel descrito en el Ejemplo 3, se agrega D-3,4,5-tri-O-(fenilcarbamoil) mio-inositol-1,2,6-trisfosfato (PP 11-201) con el resultado mostrado adelante:

Sustancia formación Neointima (mm<sup>2</sup>) Reducción (%)

Control 1,12

PP 11-201 0,43 62

El experimento muestra que la administración de PP 11-201 reduce la formación de neointima con 62%, que describe un efecto benéfico contra reestenosis. Mediante la investigación microscópica se puede observar que la elasticidad de las paredes de los vasos se mejora en los animales que reciben PP 11-201 comparado con las paredes de los vasos del grupo de control que muestra un efecto positivo sobre el remodelamiento.

### Ejemplo 5

La interacción entre el complejo del Factor 2 de Crecimiento de Fibroblastos-Receptor 1 de Factor de Crecimiento de Fibroblasto (FGF2 - FGFR1) y un compuesto modelo, D-mio-inositol-1,2,6-trisfosfato, se sustituye con el empaque de modelamiento Insight en plataforma Silicon Graphics utilizando un procedimiento de acoplamiento manual tridimensional. La estructura de rayos X de proteína del FGF2 - FGFR1 está de acuerdo con Plotnikov *et al*, Cell 98, 641 (1999), Protein Data Bank entry 1CVS.

Una fisura larga del complejo de proteína (30 Å) expone dos sitios de unión al compuesto modelo con las siguientes características:

#### Sitio 1

Cerca a la parte central de la fisura hay una concentración de residuos cargados positivamente: Lys A26, Lys A135, Lys C163, Lys C166, Lys C172, Lys C175, Lys C207, Arg A120 y His C166. Las siguientes distancias entre el oxígeno y el radical P-O en el compuesto modelo y los átomos de nitrógeno en el residuo cargado positivamente se caracterizan:

Residuo Distancia (Å)

Lys C163 2,4

Lys A135 2,7

Lys C172 2,7

His C166 2,3

#### Sitio 2

Cerca al final de la región de fisura hay una concentración de otro conjunto de residuos cargados positivamente: Lys B26, Lys B135, Lys B120, Lys D172, Lys C175, Lys D163, Lys C207, Arg B120 y His D166. Las siguientes distancias entre el oxígeno y el radical P-O en el compuesto modelo y los átomos de nitrógeno en residuos cargados positivamente se caracterizan:

## ES 2 316 568 T3

Residuo Distancia (Å)

Lys B135 2,3

5

Lys D163 3,6

Lys C175 3,2

His D166 3,2

10

El experimento de modelamiento muestra una fuerte unión entre el compuesto modelo D-mio-inositol-1,2,6-tris-fosfato, y dos sitios distintos del complejo de receptor FGF2 - FGFR1.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

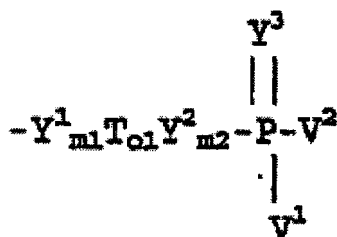
REIVINDICACIONES

1. El uso de un compuesto que contiene un dominio cargado negativamente de alta densidad de por lo menos tres radicales que contienen fósforo orientados vecinalmente para la preparación de un medicamento para prevenir, aliviar o combatir reestenosis en mamíferos incluyendo humanos.

2. El uso de un compuesto que contiene un dominio cargado negativamente, de alta densidad de por lo menos tres radicales que contienen fósforo orientados vecinalmente para la preparación de un medicamento para prevenir, aliviar o combatir hiperplasia, remodelamiento e hipertrofia en mamíferos que incluye humanos.

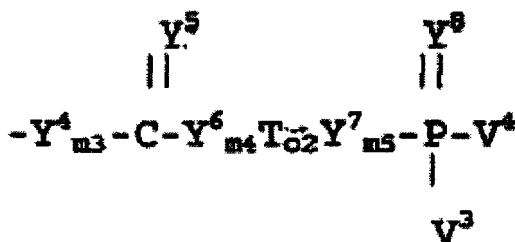
3. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-2 en donde los radicales que contienen fósforo tienen la siguiente fórmula:

a)



o

b)



en donde

V<sup>1a</sup> V<sup>4</sup> son Y<sup>8</sup><sub>m6</sub>T<sub>o3</sub>U

T<sub>o1</sub> a T<sub>o3</sub> son (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>, CHCH, o CH<sub>2</sub>CHCHCH<sub>2</sub>

o<sub>1</sub> a o<sub>3</sub> son 0 a 1

n es 0 a 4

U es R<sup>1</sup>Y<sup>9</sup><sub>m7</sub>, CY<sup>10</sup>Y<sup>11</sup>R<sup>2</sup>, SY<sup>12</sup>Y<sup>13</sup>Y<sup>14</sup>R<sup>3</sup>, PY<sup>15</sup>Y<sup>16</sup>Y<sup>17</sup>R<sup>4</sup>R<sup>5</sup>,

Y<sup>18</sup>PY<sup>19</sup>Y<sup>20</sup>Y<sup>21</sup>R<sup>6</sup>R<sup>7</sup>, CH<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>, NHSO<sub>2</sub>R<sup>8</sup> o NHCY<sup>22</sup>Y<sup>23</sup>R<sup>9</sup>

m<sub>1</sub> a m<sub>7</sub> son 0 a 1

Y<sup>1a</sup> Y<sup>23</sup> son NR<sup>10</sup>, NOR<sup>11</sup>, O ó S

Y donde R<sup>1</sup> a R<sup>11</sup> son

i) hidrógeno

ii) un residuo alquilo saturado o insaturado recto o ramificado que contiene 1-22 átomos de carbono

iii) un residuo homo- o heterocíclico aromático o no aromático saturado o insaturado que contiene 3-22 átomos de carbono y 0-5 heteroátomos que consisten de nitrógeno, oxígeno o azufre

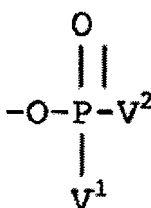
## ES 2 316 568 T3

iv) un residuo alquilo saturado o insaturado recto o ramificado que contiene 1-22 átomos de carbono sustituido con un residuo homo- o heterocíclico aromático saturado o insaturado que contiene 3-22 átomos de carbono y 0-5 heteroátomos que consisten de nitrógeno, oxígeno o azufre

5 v) un residuo homo- o heterocíclico aromático o no aromático que contiene 3-22 átomos de carbono y 0-5 heteroátomos que consisten de nitrógeno, oxígeno, o azufre sustituido con un residuo alquilo saturado o insaturado recto o ramificado que contiene 1-22 átomos de carbono.

10 en los dichos grupos ii-v los residuos y/o sus sustituyentes se sustituyen con 0-6 de los siguientes grupos: hidroxilo, alcoxi, ariloxi, aciloxi, carboxi, alcoxycarbonilo, alcoxycarboniloxi, ariloxycarbonilo, ariloxycarboniloxi, carbamoilo, fluoro, cloro, bromo, azido, ciano, oxo, oxa, amino, imino, alquilamino, arilamino, acilamino, arilazo, nitro, alquiltio o alquilsulfonilo.

15 4. El uso de acuerdo con la reivindicación 3 en donde los radicales que contienen fósforo tienen la siguiente fórmula:



20 en donde  $\text{V}^1$  y  $\text{V}^2$  son OH,  $(\text{CH}_2)_p\text{OH}$ , COOH, CONH<sub>2</sub>, CONOH,  $(\text{CH}_2)_p\text{COOH}$ ,  $(\text{CH}_2)_p\text{CONH}_2$ ,  $(\text{CH}_2)_p\text{CONOH}$ ,  $(\text{CH}_2)_p\text{SO}_3\text{H}$ ,  $(\text{CH}_2)_p\text{SO}_3\text{NH}_2$ ,  $(\text{CH}_2)_p\text{NO}_2$ ,  $(\text{CH}_2)_p\text{PO}_3\text{H}_2$ ,  $\text{O}(\text{CH}_2)_p\text{OH}$ ,  $\text{O}(\text{CH}_2)_p\text{COOH}$ ,  $\text{O}(\text{CH}_2)_p\text{CONH}_2$ ,  $\text{O}(\text{CH}_2)_p\text{CONOH}$ ,  $(\text{CH}_2)_p\text{SO}_3\text{H}$ ,  $\text{O}(\text{CH}_2)_p\text{SO}_3\text{NH}_2$ ,  $\text{O}(\text{CH}_2)_p\text{NO}_2$ ,  $\text{O}(\text{CH}_2)_p\text{PO}_3\text{H}_2$ ,  $\text{CF}_2\text{COOH}$  y p es 1 a 4.

25 5. El uso de acuerdo con la reivindicación 3 en donde los radicales que contienen fósforo son grupos fosfato.

30 6. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-2 en donde la estructura para la región cargada negativamente de alta densidad de radicales orientados vecinalmente es un grupo funcional cíclico.

35 7. El uso de acuerdo con la reivindicación 6 en donde la estructura es un grupo funcional homo o heterocíclico aromático o no aromático saturado o insaturado en donde el heteroátomo es nitrógeno, oxígeno, azufre o selenio.

40 8. El uso de acuerdo con la reivindicación 7 en donde el grupo funcional descrito comprende 4 a 24 átomos, preferiblemente 5 a 18 átomos.

45 9. El uso de acuerdo con la reivindicación 7 en donde el grupo funcional cíclico se selecciona del grupo de ciclo-pentano, ciclohexano, cicloheptano, inositol, monosacárido, disacárido, trisacárido, tetrasacárido, piperidina, tetrahidrotiopirano, 5-oxotetrahidrotiopirano, 5,5-dioxotetrahidrotiopirano, tetrahidroselenopirano, tetrahidrofurano, pirrolidina, tetrahidrotiofeno, 5-oxotetrahidrotiofeno, 5,5-dioxotetrahidrotiofeno, tetrahidroselenofeno, benceno, cumeno, mesitileno, naftaleno y fenantreno.

50 10. El uso de acuerdo con la reivindicación 7 en donde el grupo funcional cíclico se selecciona del grupo de aloinositol, cisinositol, epiinositol, D/L-quirositol, scilinositol, mioinositol, mucinositol y neoinositol.

55 11. El uso de acuerdo con la reivindicación 7 en donde el grupo funcional cíclico se selecciona del grupo de D/L-ribosa, D/L-arabinosa, D/L-xilosa, D/L-lixosa, D/L-alosa, D/L-altrosa, D/L-glucosa, D/L-mannosa, D/L-gulosa, D/L-idosa, D/L-galactosa, D/L-talosa, D/L-ribulosa, D/L-xilulosa, D/L-psicosa, D/L-sorbosa, D/L-tagatosa y D/L-fructosa.

12. El uso de acuerdo con la reivindicación 7 en donde el radical que contiene fósforo es axial, y dos de los radicales que contienen fósforo son ecuatoriales.

60 13. El uso de acuerdo con la reivindicación 12 en donde el compuesto se selecciona del grupo de mio-inositol-1,2,6-trisfosfato, mannos-2,3,4-trisfosfato, ramnos-2,3,4-trisfosfato, galactos-2,3,4-trisfosfato, metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-mannopiranosida-2,3,4-trisfosfato, 1,5-anhidro-D-arabinitol-2,3,4-trisfosfato, fructos-2,3,4-trisfosfato, 1,2-O-etileno- $\beta$ -D-fructopiranosida-2,3,4-trisfosfato, ciclohexano-1,2,3-trioltrisfosfato, 1,5-dideoxi-1,5-iminoarabinitol-2,3,4-trisfosfato, altrosa-2,3,4-trisfosfato, metil-6-O-butil- $\alpha$ -D-altropiranosida-2,3,4-trisfosfato o sus derivados.

65 14. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-2 en donde el compuesto se administra mediante administración parenteral o no parenteral.

## ES 2 316 568 T3

15. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-2 en donde la cantidad efectiva es de aproximadamente 0.1 a aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal del animal o humano.

5 16. El uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-2 en donde el medicamento está en forma de dosificación unitaria que comprende comprimidos, gránulos, cápsulas, soluciones o suspensiones.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65