



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 301 215**

51 Int. Cl.:
C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/41 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **98957433 .0**
86 Fecha de presentación : **30.10.1998**
87 Número de publicación de la solicitud: **1039906**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **04.10.2000**

54 Título: **Complejos de metal con efectos antibacterianos y fungicidas.**

30 Prioridad: **31.10.1997 US 65409**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.06.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.06.2008

73 Titular/es: **SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION**
One Franklin Plaza, P.O. Box 7929
Philadelphia, Pennsylvania 19101, US
LIGAND PHARMACEUTICALS, Inc.

72 Inventor/es: **Luengo, Juan, I. y**
Miller, Stephen, G.

74 Agente: **Carpintero López, Francisco**

ES 2 301 215 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

Complejos de metal con efectos antibacterianos y fungicidas.

5 **Campo de la invención**

Esta invención se refiere a ligandos en complejo metálico de G-CSFR, procedimientos para prepararlos e identificarlos y su uso como agonista de G-CSFR.

10 **Antecedentes de la invención**

El factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) es una glicoproteína secretada por macrófagos, fibroblastos y células endoteliales originariamente identificados por su capacidad para estimular la supervivencia. Proliferación y diferenciación *in vitro* de granulocitos predominantemente neutrófilos a partir de sus progenitores en la médula ósea (Nicola N.A., Annu Rev. Biochem. (1989) 58: 45). La capacidad de G-CSF para regular la granulopoyesis *in vivo* está avalada por estudios animales y clínicos, que demostraron una elevación reversible en los niveles circulantes de neutrófilos en respuesta al G-CSF recombinante administrado (Gabrilove, J.L. y col., N. Engl. J. Med. (1988) 318: 1414). El G-CSF posee efectos pleiotrópicos sobre los neutrófilos maduros, lo que potencia su supervivencia y estimulan la activación funcional, incluida la inducción de la fosfatasa alcalina de neutrófilos (Sato. N. y col., J. Cell. Physiol. (1988) 37: 272) y receptores de Fc de IgA de alta afinidad (Weisbart, R. H., y col., Natura (Lond.) (1988) 332: 647), lo que ceba la descarga respiratoria (Nathan, C. F. Blood (1989) 73: 301) y mayor quimiotaxia (Wang, J.M., Blood (1988) 72: 1456). Los efectos del G-CSF también se han observado en las células hamatopoyéticas que no están comprometidas con el linaje de los granulocitos, por ejemplo, estimulación de la proliferación en la diferenciación monolítica *in vitro* de algunas células leucémicas mieloides (Geissler, K., J. Immunol. (1989) 143:140) y la proliferación *in vitro* de algunos precursores hematopoyéticos multipotenciales (Ferrero, D., Blood (1989) 73: 402).

El G-CSF activa procesos intracelulares mediante la unión al receptor del factor estimulante de colonias de granulocitos (receptor G-CSF) (Demetri, G. D. y Griffin J. D., Blood 1991, 78, 2791; Avalos, B. R. Blood, 1996, 88, 761). El receptor de G-CSF es un receptor transmembranal simple de citocinas de superficie celular compuesto por tres dominios: un dominio extracelular de unión a ligando, un dominio transmembranal y un dominio intracelular de transducción de señal. Ahora está claro que la transducción de señal mediante citocinas se consigue mediante dimerización del receptor mediada por ligando (Ullrich A., y Schlessinger, J., "Signal transduction by receptors with tyrosine kinase activity", Cell, 61" 203-212 (1990); Kishimoto T., Taga T., y Akira, S. "Cytokine signal transduction", Cell, 76: 253-262 (1994); Heldin, C.H., "Dimerization of cell surface receptors in signal transduction", Cell, 80: 213-223 (1995); Lemmon M.A. y Schlessinger J., "Regulation of signal transduction and signal diversity by receptor oligomerization", Trends Biol. Sci., 19: 459-463 (1994)). El G-CSF se une a dos subunidades del receptor, lo que tiene como resultado la homodimerización, un acontecimiento que estimula la activación de las tirosina quinasas citoplasmáticas que se asocian con el dominio intracelular de los receptores. A continuación, esta actividad tirosina quinasa inicia una cascada de procesos intracelulares.

La administración de G-CSF recombinante a pacientes que sufren neutropenia debido a varias causas indicó que el G-CSF es beneficioso como adyuvante en la quimioterapia y en el trasplante de médula ósea (Morstyn G. y col., Trends. Pharmacol. Sci. 10, (1989) 154-159). La actividad de G-CSF también se asocia con la movilización de las células madre hematopoyéticas desde la médula a la sangre periférica. (Haylock y col., Blood 89: 2233-2258, 1997).

A pesar del éxito del G-CSF recombinante en la producción de una respuesta agonista en el receptor de G-CSF, no se considera un tratamiento farmacéutico ideal. La ausencia de biodisponibilidad oral y una limitada semivida sérica limitan la conveniencia y la eficacia del G-CSF recombinante como agente farmacéutico. En consecuencia, existe la necesidad de proporcionar ligandos mejorados que posean propiedades agonistas hacia el receptor de G-CSF.

El receptor de G-CSF humano se secuenció por primera vez en 1990 (Fukunaga, R., Seto, Y., Mizushima, S., y Nagata, S. Three different mRNAs encoding human granulocyte colony-stimulating factor receptor Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU. 87(22): 8702-8706, 1990) y ya se había caracterizado mediante estudios de radioligando en neutrófilos de sangre humana purificada en 1986 (Nicola NA; Vadas MA; López AF, J Cell Physiol, 1986, 128 501-9). A pesar del hecho de que las herramientas del ensayo han estado disponibles durante más de una década, sólo una solicitud (PCT/US97/08864) describe pequeñas moléculas orgánicas que exhiben actividad mimética a la del G-CSF. Esta solicitud no menciona moléculas orgánicas pequeñas queladas con cinc.

Como se describe en la presente memoria descriptiva, inesperadamente se ha descubierto que ciertos ligandos de receptores quelados con cinc seleccionados poseen propiedades agonistas por el receptor de G-CSF.

Este descubrimiento, que moléculas orgánicas pequeñas queladas con cinc exhiben actividad agonista por el receptor de G-CSF, es particularmente sorprendente en vista del hallazgo de que el ligando natural del receptor de G-CSF (es decir, G-CSF o G-CSF recombinante) no utiliza quelación con cinc durante la activación. Este hallazgo se ejemplifica y comenta en los ejemplos siguientes.

Resumen de la invención

En consecuencia, un aspecto de la presente invención es un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc seleccionado de:

Bis{2,5-bis[2-bencimidazolimino]-3a,6a-bis(2-piridil)-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol-N,N'}-cinc (II);

Bis{2,5-bis[2-bencimidazolimino]-3a,6a-difenil-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol-N,N'}-cinc (II);

Bis{5-(2-bencimidazolimino)-2-[(5-metil-2-bencimidazolil)imino]-3a,6a-bis(2-piridil)-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol-N,N'}-cinc (II); y

Bis{2,5-bis[(5-metil-2-bencimidazolil)imino]-3a,6a-bis(2-piridil)-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol-N,N'}-cinc (II).

Otro aspecto de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc.

Un tercer aspecto de la invención se refiere a ligandos del receptor de G-CSF quelados con cinc para el uso en tratamiento.

Un cuarto aspecto de la invención se refiere al uso de un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de infecciones bacterianas y fúngicas.

Breve descripción de las figuras

La figura 1 muestra la actividad de dos muestras diferentes de compuesto 1a (del Ejemplo 1) sobre la línea de células mieloides murinas NFS60 que contenía un elemento respondedor a G-CSF unido a un promotor mínimo y el gen de la luciferasa. La actividad del compuesto 1a está por debajo del umbral del 150% sobre la básico. El estudio se realizó como un ensayo de luciferasa configurado en la línea celular NFS60 respondedor a G-CSF como se describe en Tian y col., Science 281, 257-259 (1998).

Los experimentos mostrados en las figuras 2-8 usaron la misma línea celular NFS60.

La Figura 2 muestra el mismo tipo de experimento en las células NFS60, pero en presencia de cinc (II) 1 μ M. La actividad del compuesto 1a es de aproximadamente 350% sobre el control, lo que indica que el cinc (II) potencia la actividad del compuesto 1a.

La Figura 3 es un análisis del efecto del ácido etilendiaminotetraacético (como se usa en la presente memoria descriptiva- EDTA) sobre la actividad del Compuesto 1a (del Ejemplo 1) en células NFS60. Se muestran las curvas de respuesta a la luciferasa del Compuesto 1a a las concentraciones indicadas y en presencia de varias concentraciones de EDTA. EDTA a una concentración 1,2 milimolar antagonizó la actividad del compuesto 1a. Los medios en este ensayo contenían una pequeña cantidad (1-5 μ M) de cinc (II).

La Figura 4 es un análisis del efecto del EDTA sobre la actividad del G-CSF recombinante sobre las células NFS60. Se muestran las curvas de respuesta de la luciferasa del G-CSF recombinante a las concentraciones indicadas y en presencia de varias concentraciones de EDTA. EDTA, tanto a 1,2 como a 5 milimolar, posee poco efecto sobre la actividad del G-CSF recombinante en el ensayo.

Las Figuras 5 y 6 representan un análisis de la actividad de cloruros metálicos solos sobre el nivel basal de luciferasa de las células NFS60. Se muestran las curvas de respuesta a la luciferasa de los cloruros metálicos indicados a varias concentraciones. Ninguno de los metales posee un efecto significativo sobre los niveles basales de luciferasa a concentraciones iguales o inferiores a 10 micromolar.

Las Figuras 7 y 8 muestran un análisis del efecto de los cloruros metálicos sobre la actividad deplecionada del EDTA del Compuesto 1a sobre las células NFS60. Se muestran las curvas de respuesta a la luciferasa como se ven afectadas por los cloruros metálicos indicados. Sólo el cinc (IT) a concentraciones 0,5-10 micromolar puede superar la inhibición de la actividad de la luciferasa causada por una concentración 50 micromolar del quelante metálico EDTA. Ninguno de los otros metales analizados pueden superar el efecto inhibitor del EDTA.

Descripción detallada de la invención

Todas las publicaciones, incluidas, entre otras, las patentes y solicitudes de patentes, citadas en esta memoria se incorporan en la presente memoria descriptiva por referencia como si se expusieran completamente.

Con el término "heteroátomo(s)", como se usa en la presente memoria descriptiva, se quiere decir nitrógeno, oxígeno o azufre, preferentemente nitrógeno.

Con el término “tratar” y derivados del mismo, como se usa en la presente memoria descriptiva, se quiere decir tratamiento profiláctico o terapéutico.

Con el término “molécula orgánica” y derivados del mismo, como se usa en la presente memoria descriptiva, se quiere decir el uso estándar en la técnica para el químico orgánico habitual y como tal, excluye las moléculas inorgánicas y las moléculas peptídicas.

Con la frase “movilizar las células madre en sangre periférica”, como se usa en la presente memoria descriptiva, se quiere decir la movilización de células madre hematopoyéticas desde la médula a la sangre periférica.

Los ligandos del receptor quelados con cinc de esta invención que tienen propiedades agonistas por el receptor de G-CSF son compuestos que constan de uno o más restos de unión al receptor de G-CSF, preferentemente de 1 a 4 restos, más preferentemente 1 ó 2 restos, en los que cada resto de unión al receptor de G-CSF forma al menos dos enlaces coordinados a cada uno o más iones de cinc, preferentemente cada resto formará dos o tres enlaces coordinados a cada uno o dos iones de cinc.

Con el término “resto de unión al receptor de G-CSF”, y derivados del mismo, como se usa en la presente memoria descriptiva, se quiere decir una molécula orgánica pequeña que posee un peso molecular de aproximadamente 100 a aproximadamente 850, preferentemente que posee un peso molecular de aproximadamente 200 a aproximadamente 750, más preferentemente posee un peso molecular de aproximadamente 300 a aproximadamente 650 y que posee de 1 a 4 motivos de unión a cinc, que preferentemente posee uno o dos motivos de unión a cinc. En una forma de realización, la quelación metálica forma un multímero simétrico, como un dímero, del resto de unión al receptor.

Con el término “motivo de unión a cinc”, y derivados del mismo, como se usa en la presente memoria descriptiva, se quiere decir una continuación de átomos dentro del resto de unión al receptor del G-CSF que posee las siguientes características:

- 1) cada continuación consta de 3 a 10 átomos, preferentemente de 4 a 8 átomos, más preferentemente 4 ó 5 átomos.
- 2) cada continuación consta además de dos o más heteroátomos, preferentemente de 2 a 4 heteroátomos, más preferentemente de 2 a 3 heteroátomos, preferentemente al menos uno de los heteroátomos es nitrógeno, donde los heteroátomos están separados entre sí por de uno a cuatro átomos adicionales seleccionados del grupo compuesto por carbono, nitrógeno, azufre y oxígeno, preferentemente carbono o nitrógeno, preferentemente por de 2 a 4 átomos adicionales, más preferentemente por 2 ó 3 átomos adicionales, y
- 3) la configuración de los heteroátomos dentro del motivo de unión al cinc permite la quelación de coordinación a un ion de cinc (II) proporcionando la formación de al menos dos enlaces coordinados, preferentemente dos o tres enlaces coordinados, simultáneamente a un ion de cinc.

Ejemplos de motivos de unión a cinc para usar en la presente invención incluyen, entre otros, los siguientes: -N-C-C-N-, -N-C=C-N-, -N-C-C=N-, -N=C-C=N-, -O-C-C-N-, -O-C=C-N-, -O-C-C=N-, -O=C-C=N-, -S-C-C-N-, -S-C=C-N-, -S-C-C=N-, -S-C-C-S-, -N=C-N-N-, -N-C-N-N-, -O=C-N-N-, -S=C-N-N-, -O-C-C=O-, -O-N-C=O-, -N=C-N-C=N-, -O=C-N-C=N-, -N=C-C-C=N-, -O-C-C-C=O-, -N-C-C-C-N-, -N-C-C=C-N-, -N=C-C=N-, -N=C-C=C-O-, -N=C-C=C-S-, -S=C-C=C-S-, -O=C-N-C=N-, -N-N-C-C=N-, -N-N-C-N-N-, -N-C=N-C=N-, -N=C-N-C=N-C-C-N- y -N=C-N-C=N-C-C=N-.

Restos preferidos de unión al receptor de G-CSF de la presente invención comprenden uno o más de los siguientes grupos funcionales, preferentemente uno o dos de los siguientes grupos funcionales: 2-guanidiniobencimidazoles, 2-guanidiniobenzoxazoles, 2-guanidiniobenzotiazol, 2-mercaptometilpiridinas, acilacetonas, acilhidrazinas, 2-aminoetanotioles, 2-(imidazol-4-il)etilaminas, 2-(imidazol-2-il)etilaminas, 2-(imidazol-4-il)etilaminas, 2-(imidazol-2-il)etilaminas, 2-picolamina, 8-hidroxiquinolinas, 8-aminoquinolinas, 8-mercaptoquinolinas, etilendiaminas, piridina-2-carboxidimas, 2,2'-bipiridilos, 2-tiobenzaldimas, 2-hidroxibenzaidimas y 2,5-diimino-3a,6a-iaril-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazoles.

Los grupos funcionales anteriores generalmente formarán parte de una molécula más grande y pueden además sustituirse en la formación de un resto de unión al receptor de G-CSF. Sustituyentes preferidos para uso opcional en los grupos funcionales anteriores constan de uno o más grupos seleccionados de los siguientes: alquilo, arilo, hidroxi, alcoxi, aciloxi, carbamofilo, amino, N-acilamino, cetona, halógeno, ciano, tio, carboxi y carboxamido.

Como se obtiene de la representación de bis{2,5-bis[2-bencimidazolilimino]-3a,6a-bis(2-piridil)-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol-N,N'}-cinc (II) en el Ejemplo I a continuación, un motivo de 8 átomos de unión a cinc (específicamente el -N=C-N-C=N-C-C=N-) es esencialmente una superposición de un motivo de 5 átomos de unión a cinc (es decir, -N=C-N-C=N-) y un motivo de 4 átomos de unión a cinc (es decir, -N-C-C=N-) en una continuación. Como tal, los motivos preferidos de unión a cinc de la presente invención constan de una continuación de 4 ó 5 átomos, bien individualmente o como parte de una combinación. Además, cada átomo de un motivo de unión a cinc de la presente invención puede además estar sustituido, puede estar saturado o contener varios grados de instauración o puede formar parte de un sistema lineal más grande o un sistema de anillo aromático o no aromático.

ES 2 301 215 T3

Los ligandos del receptor de G-CSF quelados con cinc de esta invención están incluidos en las composiciones farmacéuticas de la invención y usarse en los procedimientos de la invención. Los restos de unión al receptor de G-CSF de esta invención están incluidos en las composiciones farmacéuticas de la invención y usarse en los procedimientos de la invención.

Con el término “coadministrar” y derivados del mismo, como se usa en la presente memoria descriptiva, se quiere decir bien administración simultánea o cualquier manera de administración secuencial separada de un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc, como se describe en la presente memoria descriptiva, y otro ingrediente o ingredientes activos, tales como agentes antibacterianos, agentes antifúngicos así como agentes conocidos por tratar la neutropenia, incluida la neutropenia inducida por quimioterapia y el trasplante de médula ósea, y en la movilización de células madre de sangre periférica y otras afecciones con depresión de la producción de leucocitos. Preferentemente, si la administración no es simultánea, los agentes se administran en una estrecha proximidad de tiempo uno de otro. Además, no importa si los agentes se administran en la misma forma de dosificación, por ejemplo un agente se puede administrar por vía subcutánea y otro agente se puede administrar por vía oral.

Los ligandos del receptor de G-CSF quelados con cinc de esta invención se preparan haciendo reaccionar uno o más restos de unión al receptor de G-CSF y una fuente de iones de cinc, tal como $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$, en un disolvente, seguido por aislamiento opcional del ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc. El orden en el que los ingredientes indicados se utilizan en el procedimiento de la presente invención no es crucial. Todos los órdenes de adición de los ingredientes indicados se encuentran dentro del alcance de la invención. Además, los ligandos del receptor de G-CSF quelados con cinc de esta invención se pueden preparar *in vivo* mediante la administración a un sujeto de un resto de unión al receptor de G-CSF y la utilización de iones de cinc naturales en el cuerpo del sujeto.

Cuando sea adecuado se forman sales farmacéuticamente aceptables, hidratos y solvatos, mediante procedimientos bien conocidos para los expertos en la técnica.

Dado que los compuestos farmacéuticamente activos de la presente invención son activos como agonistas del receptor de G-CSF, exhiben utilidad terapéutica en el tratamiento de infecciones bacterianas, infecciones fúngicas, neutropenia, incluida la neutropenia inducida por quimioterapia y trasplante de médula ósea, y en la movilización de células madre de sangre periférica y otras afecciones con depresión de la producción de leucocitos.

Al determinar la potencia de los compuestos de la presente invención como agonistas del receptor de G-CSF, se emplean los ensayos siguientes:

Ensayo de luciferasa

Compuestos de la presente invención se analizaron para determinar la potencia como agonistas del receptor de G-CSF en un ensayo de gen indicador de luciferasa tal como se describe en Tian y col., Science 281, 257-259 (1998). Se seleccionaron las células NFS60 (Holmes y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 6687-6691 (1985)) porque expresan receptores endógenos de G-CSF que coinciden estrechamente con el patrón de activación STAT (transductores de señal y activadores de la transcripción) observado en células primarias de médula ósea murinas y humanas.

Ensayo de luciferasa y EDTA

Con el fin de determinar los requisitos de la quelación de cinc de moléculas orgánicas pequeñas a la actividad agonista en el receptor de G-CSF, el ensayo de luciferasa anterior se realizó en presencia de EDTA. EDTA es un fuerte quelante de metales y tenía como su único efecto, la eliminación del cinc de la interacción ligando-receptor.

Ensayo CFU-G

Compuestos de esta invención también se analizan para determinar la actividad en los ensayos siguientes: ensayo CFU-G (un ejemplo del cual se describe en King AG, Talmadge J., Badger AM, Pelus LM. Regulation of colony stimulating activity production from bone marrow stromal cells by the hemoregulatory peptide, HP-5. Exp. Hematol. 20: 223-228, 1992) y la evaluación *in vivo* del recuento de neutrófilos y monocitos de sangre periférica en ratones (un ejemplo del cual se describe en Pelus, L.M.; King, A.G.; Broxmeyer, H.E.; DeMarsh, P.L.; Petteway, S.R.; Bhatnagar, P.K., *in vivo* modulation of hematopoiesis by a novel hemoregulatory peptide Exp. Hematol. 1994 22(3); 239-47). Con el fin de confirmar el requisito para la quelación con cinc (II), el ensayo CFU-G anterior también se realizó en presencia de EDTA.

Microcalorimetría de titulación isotérmica

La afinidad mediada por cinc de compuestos de esta invención para el receptor de G-CSF se midió mediante experimentos de microcalorimetría de titulación isotérmica. La microcalorimetría de titulación detecta la unión en forma de calor que se origina del cambio de entalpía intrínseca de la formación de enlaces. En este ensayo, los compuestos se titularon primero frente a cinc (II) solo. En otro experimento, después, los compuestos se analizaron en presencia de cinc y una proteína de fusión G-CSF/Fc, que contenía el dominio extracelular del receptor de G-CSF presentado en una forma dimérica debido al componente Fc. La interacción con G-CSF/Fc se confirmó por el cambio de la entalpía de unión, que aumento sustancialmente con respecto al del cinc solo. Cuando el último experimento se

ES 2 301 215 T3

llevó a cabo en ausencia de cinc, no se detectó ningún calor de la unión, lo que indica que no se produjo interacción con G-CSF/Fc en dichas condiciones.

Los Compuestos I y 3a se unen a la proteína de fusión G-CSF/Fc con una elevada afinidad submicromolar sólo en presencia de cinc. Los compuestos 1, 1a, 2a y 3a mostraron activación por encima del 150% del control entre el intervalo de concentración de 1 a 100 micromolar en el ensayo de luciferasa. Además, los compuestos 1a y 3a mostraron activación por encima del 150% del control entre el intervalo de concentración de 1 a 100 micromolar en el ensayo CFU-G murino. Los compuestos 1a y 3a mostraron elevación del recuento de neutrófilos y monocitos de sangre periférica en el ratón.

Como se demuestra mediante los resultados representados en la Figura 1, la actividad agonista de G-CSF del compuesto 1a en ausencia de cinc es inferior a la actividad umbral del 150% de la básica. No obstante, como se muestra en la Figura 2, la presencia de cinc (II) 1 μ M activa el compuesto 1a, de modo que se convierte en un agonista de G-CSF con una eficacia de 350% por encima de la básica a 1 μ M. Esto es una indicación de que el cinc (II) media la actividad del compuesto 1a.

Como se demuestra mediante los resultados representados en la Figura 3, la actividad agonista de G-CSF del compuesto 1a se anuló en presencia de EDTA, lo que confirma que un ion metálico media en la actividad.

Al contrario, los resultados representados en la Figura 4 indican que la actividad agonista del ligando natural (es decir, G-CSF o G-CSF recombinante como se usa en la presente memoria descriptiva) no está mediada por iones metálicos.

Los resultados representados en las Figuras 5 y 6 indican que los iones metálicos solos son insuficientes para desencadenar una respuesta agonista en el receptor de G-CSF.

Los resultados representados en las Figuras 7 y 8 indican que la quelación de una molécula pequeña a los iones de cinc (y no a iones de manganeso, hierro, cobre o cobalto) es un requisito para la activación del receptor de G-CSF por moléculas orgánicas.

Los resultados representados en las Figuras hasta la 8 demuestran, por primera vez, que las moléculas pequeñas queladas con cinc, o ligandos del receptor quelados con cinc como se usan en la presente memoria descriptiva, son necesarios para la activación del receptor de G-CSF por moléculas orgánicas.

Según la descripción en la especificación y en los Ejemplos, un experto en la técnica puede diseñar con facilidad y preparar un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc. Además, un experto en la técnica puede determinar con facilidad si un candidato a ligando del receptor de G-CSF está actuando como agonista del receptor de G-CSF usando los ensayos descritos en la presente memoria descriptiva y, después, repetir los experimentos de las Figuras 1 a 8.

Los compuestos farmacéuticamente activos dentro del alcance de esta invención son útiles como miméticos del G-CSF en mamíferos, incluidos seres humanos, que lo necesiten.

Por tanto, la presente invención proporciona un procedimiento de tratar infecciones bacterianas, infecciones fúngicas, neutropenia, incluida la neutropenia inducida por quimioterapia y trasplante de médula ósea, y en la movilización de las células madre de sangre periférica y otras afecciones con depresión de la producción de leucocitos, que comprende administrar un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc en una cantidad eficaz para potenciar la producción de leucocitos. Los ligandos del receptor de G-CSF quelado con cinc de la presente invención también proporcionan un procedimiento de tratar los estados de enfermedad indicados antes por su demostrada capacidad para actuar como agonistas del receptor de G-CSF. El fármaco puede administrarse a un paciente que lo necesite mediante cualquier vía de administración convencional, incluyendo, entre otras, las vías intravenosa, intramuscular, oral, subcutánea, intradérmica y parenteral. Asimismo, el fármaco se puede formar *in vivo* mediante la administración de un resto de unión al receptor de G-CSF mediante los mismos procedimientos de administración descritos en la presente memoria descriptiva y en aproximadamente las mismas cantidades como se han descrito en la presente memoria descriptiva para ligandos del receptor de G-CSF quelados con cinc. Además, existe la posibilidad de que los problemas de solubilidad y biodisponibilidad estén asociados con los ligandos del receptor de G-CSF quelados con cinc de la presente invención. Por tanto, dependiendo del resto concreto en cuestión, a menudo será preferible administrar un resto de unión al receptor de G-CSF de la presente invención y, por tanto, posteriormente formar un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc *in vivo* usando plasma como disolvente e iones de cinc naturales. En la presente memoria descriptiva también se contempla que un resto de unión al receptor de la presente invención se administre con una fuente de cinc de modo que se facilite la formación *in vivo* de un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc.

Los ligandos del receptor de G-CSF quelados con cinc farmacéuticamente activos de la presente invención o, cuando se desee y sea adecuado, los restos de unión al receptor de G-CSF de la presente invención se incorporan en formas de dosificación cómodas, tales como cápsulas, comprimidos o preparaciones inyectables. Se emplean portadores farmacéuticos sólidos o líquidos. Entre los portadores sólidos se incluyen almidón, lactosa, dihidrato sulfato de calcio, terra alba, sacarosa, talco, gelatina, Agar, pectina, goma arábica, estearato de magnesio y ácido esteárico. Entre los portadores líquidos se incluyen jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, solución salina y agua. De igual modo, el

portador o diluyente puede incluir cualquier material de liberación prolongada, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, solo o con una cera. La cantidad de portador sólido varía ampliamente pero, preferentemente, será de aproximadamente 25 mg a aproximadamente 1 g por unidad de dosis. Cuando se usa un portador líquido, la preparación será en forma de un jarabe, elixir, emulsión, cápsulas de gelatina blanda, líquido inyectable estéril tal como una ampolla, o una suspensión líquida acuosa o no acuosa.

Las preparaciones farmacéuticas se preparan siguiendo técnicas convencionales de un químico farmacéutico que implican mezclado, granulado y compresión, cuando sea necesario, para formas de comprimidos, o mezclado, carga y disolución de los ingredientes, según sea adecuado, para dar los productos orales o parenterales deseados.

Dosis de los ligandos del receptor de G-CSF quelados con cinc farmacéuticamente activos de la presente invención o, cuando se desee y sea adecuado, los restos de unión al receptor de G-CSF de la presente invención, en una unidad de dosis farmacéutica como se ha descrito antes serán una cantidad eficaz no tóxica seleccionada preferentemente del intervalo de 0,001-125 mg/kg de compuesto activo, preferentemente 0,001-60 mg/kg. Al tratar a un paciente humano que necesite un agonista del receptor de G-CSF, la dosis seleccionada se administra, preferentemente, de 1-6 veces al día, por vía oral o parenteral. Las formas preferidas de administración parenteral incluyen administración tópica, rectal, transdérmica, mediante inyección y continuamente mediante infusión. Las unidades de dosis para administración humana contienen preferentemente de 0,05 a 3500 mg de compuesto activo. Se prefiere la administración oral, que usa dosis menores. No obstante, cuando sea seguro y cómodo para el paciente, también se puede usar la administración parenteral, a dosis elevadas.

Los expertos en la técnica pueden determinar con facilidad las dosificaciones óptimas, y variarán con el ligando concreto del receptor de G-CSF quelado con cinc o del resto de unión al receptor de G-CSF en uso, la concentración de la preparación, el modo de administración, y el avance de la enfermedad. Factores adicionales dependiendo del paciente concreto que se esté tratando tendrán como resultado una necesidad de ajustar dosis, incluidos la edad del paciente, el peso, la dieta y el momento de la administración.

Otro aspecto de la presente invención es un procedimiento para identificar agonistas del receptor de G-CSF y ligandos del receptor de G-CSF identificados por ello. En el procedimiento, el receptor de G-CSF se pone en contacto con los candidatos a ligando del receptor de G-CSF en presencia de una concentración micromolar de cinc (II). Los candidatos a ligando que se unen al receptor de G-CSF se seleccionan mediante ensayos de unión al receptor bien conocidos para los expertos en la técnica, tales como mediciones de la unión competitiva y no competitiva (Immobilized Affinity Ligand Techniques, G.T. Hermanson, A.K. Mallia, P.K. Smith Eds., Academic Press Inc., San Diego, CA 1992), microcalorimetría isotérmica (Rapid Measurement of Binding Constants and Heats of Binding Using a New Titration Calorimeter T. Wiseman, S. Williston, J.F. Brandts y L.N. Lin (1989) Analytical Biochemistry 179, 131-137), equilibrio de sedimentación (T. Horan y col., Biochemistry 1996, 35, 4886-4896), ELISA. Metodologías RIA (An introduction to Radioimmunoassays and Related Techniques. T. Chard, Elsevier Science Publishers. Amsterdam. Países Bajos, 1990). BIAcore® (BIATEchnology Handbook, Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Suecia, 1994), metodología de anisotropía de fluorescencia (Luminiscent Spectroscopy of Proteins, E.A. Permyakov, CRC Press Inc., Boca Ratón, FL 1992), tecnología de citometría de flujo (Flow Cytometry and Cell Sorting, A. Radbruch, Springer-Verlag, New York, NY 1992).

En general, el receptor del G-CSF en forma aislada, inmovilizada o unida a célula se pone en contacto con una pluralidad de candidatos a ligando del receptor del G-CSF quelado con cinc y se seleccionan dichos candidatos que se unen e interaccionan con el receptor. Opcionalmente, el receptor del G-CSF aislado, inmovilizado o unido a célula se pone en contacto con una variedad de candidatos a ligando del receptor de G-CSF quelante metálico en presencia de cinc (II). La interacción de unión se puede medir directamente usando candidatos a ligando marcados radioactivamente, o indirectamente usando células que expresan el receptor de G-CSF y midiendo la aparición de un acontecimiento mediado por la formación de un complejo receptor de G-CSF-ligando. Como alternativa, los candidatos a ligando se pueden someter a ensayos de unión competitiva en los que el ligando del receptor conocido, marcado preferentemente con un reactivo analíticamente detectable, más preferentemente radioactividad, se incluye con los candidatos a ligando y se mide la capacidad de un candidato para inhibir la unión del ligando marcado.

Los candidatos a ligando del receptor de G-CSF positivos se someten a detección selectiva por la función biológica mediante uno cualquiera de los ensayos de función del receptor de G-CSF bien conocidos para los expertos en la técnica. Cabe esperar que un candidato de unión a ligando positivo exhiba actividad agonista en los ensayos de función del receptor.

Un ejemplo de un ensayo de unión competitiva adecuado implica la inmovilización del receptor de G-CSF y la incubación con compuestos de interés con G-CSF radiomarcado con I^{125} siguiendo el procedimiento general ya descrito para otros receptores de citocina (C.L. Martens y col. J. Biol. Chem. 1995, 270, 21129. E. Whitehorn y col. Biotechnology 1995, 13, 1215. S.D. Yanofsky y col. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1996, 93, 7381, N.C. Wrighton y col. Science. 1996, 273, 458, S.E. Cwirla, Science, 1997, 276, 1696).

La invención también proporciona el uso de un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc de la presente invención o un resto de unión al receptor de G-CSF de la presente invención en la fabricación de un medicamento para usar como agonista del receptor de G-CSF.

La invención también proporciona el uso de un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc o un resto de unión al receptor de G-CSF en la fabricación de un medicamento para usar en terapia.

La invención también proporciona el uso de un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc o un resto de unión al receptor de G-CSF en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de infecciones bacterianas y fúngicas.

La invención también proporciona una composición farmacéutica para usar como agonista del receptor de G-CSF, que comprende un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc o un resto de unión al receptor de G-CSF y un portador farmacéuticamente aceptable.

La invención también proporciona una composición farmacéutica para usar en el tratamiento de la neutropenia, que comprende un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc o un resto de unión al receptor de G-CSF y un portador farmacéuticamente aceptable.

La invención también proporciona una composición farmacéutica para usar en el tratamiento de infecciones bacterianas, que comprende un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc o un resto de unión al receptor de G-CSF y un portador farmacéuticamente aceptable.

La invención también proporciona una composición farmacéutica para usar en el tratamiento de infecciones fúngicas, que comprende un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc o un resto de unión al receptor de G-CSF y un portador farmacéuticamente aceptable.

La invención también proporciona un procedimiento para preparar una composición farmacéutica que contiene un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable y un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc o un resto de unión al receptor de G-CSF, que comprende poner el ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc o el resto de unión al receptor de G-CSF en asociación con el portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Cabe esperar que no se produzcan efectos toxicológicos inaceptables cuando los compuestos de la invención se administran de acuerdo con la presente invención.

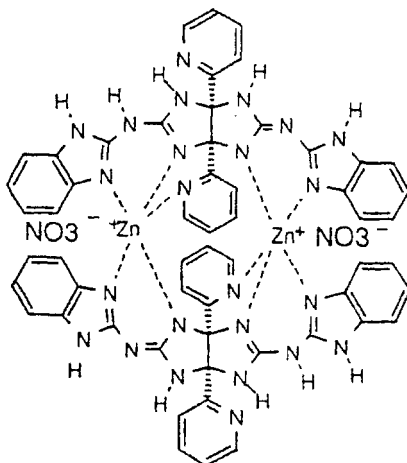
Además, los compuestos farmacéuticamente activos de la presente invención se pueden coadministrar con otros ingredientes activos, tales como otros compuestos conocidos para tratar infecciones bacterianas, infecciones fúngicas, neutropenia, incluida la neutropenia inducida por quimioterapia y trasplante de médula ósea, y en la movilización de las células madre de sangre periférica y otras afecciones con depresión de la producción de leucocitos, o compuestos que se sabe que tienen utilidad cuando se usan en combinación con un agonista del receptor de G-CSF.

Sin más elaboración, se cree que un experto en la técnica puede, usando la descripción precedente, utilizar la presente invención en toda su amplitud. Por tanto, los siguientes ejemplos deben interpretarse como meramente ilustrativos y no una limitación del alcance de la presente invención en ningún modo.

Detalles experimentales

Ejemplo 1

Preparación del Compuesto 1 bis-{2,5-bis[2-benzimidazolimino]-3a,6a-bis(2-piridil)-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazol-[4,5-d]imidazol-N,N'}-cinc (II)



ES 2 301 215 T3

a)- Preparación del Compuesto 1a- 2,5-Bis[2-benzimidazolimino]-3a,6a-bis(2-piridil)-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazol-[4,5-d]imidazol

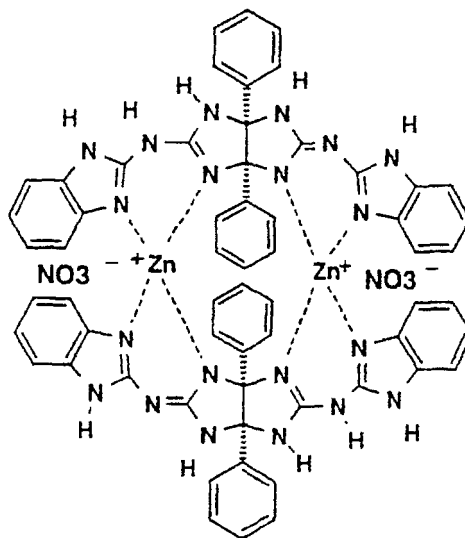
Una mezcla de 2,2'-piridil (15,8 g, 74,4 mmol) y 2-guanidinobenzimidazol (19,5 g, 111,7 mmol) en metanol (440 ml) se trató con una solución de hidróxido sódico (2,97 g, 74,4 mmol) en 74 ml y la mezcla resultante se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 4 días. El material cristalino se filtró y secó al vacío para dar 21,1 g del compuesto del título en forma de cristales blancuzcos (72%). Pf: 305-307°C (dec); tiempo de retención HPLC 4,5 min (fase inversa. Beckman ultrasphere DOS columna 4,6 mm x 25 cm, elución por gradiente 20 min con 20:80 a 60:40 acetonitrilo:agua que contiene TFA 0,1% a 2 ml/min); ¹H RMN (300 MHz, d₆-DMSO) δ 11,5 (as, NH, 2H), 10,0 (as, NH, 2H), 8,6 (as, NH, 2H), 8,38 (d, J= 4,2 Hz, 2H), 7,55 (t, J= 7,8 Hz, 2H), 7,29 (d, J= 7,8 Hz, 2H), 7,27-7,21 (m, 4H), 7,14 (as, 2H), 6,98 (dd, J= 5,8, 3,2 Hz, 4H); MS (ESI) m/z 527 [M + H]⁺; Anal. Calc. Para C₂₈H₂₂N₁₂·2/3H₂O: C, 62,44; H, 4,37, N, 31,21; Encontrado: C, 62,72; H 4,08; N, 30,86.

b)- Preparación del compuesto 1-Bis{2,5-bis[2-benzimidazolimino]-3a,6a-bis(2-piridil)-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazol-[4,5-d]imidazol-N,N'}-cinc (II)

Una solución del compuesto del Ejemplo 1a (40 mg, 0,076 mmol) en 2 ml de ácido acético acuoso al 10% se trató con una solución de hexahidrato de nitrato de cinc (24,9 mg, 0,0836 mmol) en agua (1 ml). La mezcla se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 6 h y después se centrifugó, decantó y aclaró con agua tres veces. El compuesto del título se obtuvo en forma de un polvo blanco (13 mg). Tiempo de retención HPLC 10,4 min (fase inversa, Beckman ultrasphere DOS columna 4,6 mm x 25 cm, elución por gradiente 20 min con 20:80 a 60:40 acetonitrilo:agua que contiene TFA 0,1% a 2 ml/min); MS (ESI) m/z 1182 [M]⁺, 591 [M]⁺⁺.

Ejemplo 2

Preparación del Compuesto 2 Bis-{2,5-bis[2-benzimidazolimino]-3a,6a-difenil-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo-[4,5-d]imidazol-N,N'}-cinc (II)



a)- Preparación del Compuesto 2a- 2,5-Bis[2-benzimidazolimino]-3a,6a-difenil-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo-[4,5-d]imidazol

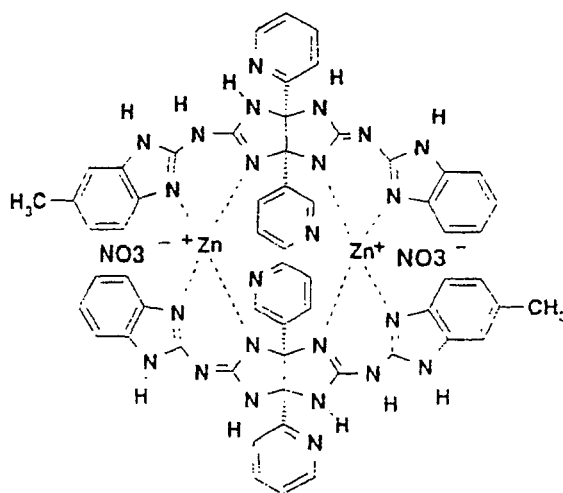
Una mezcla de bencilo (1,05 g, 5,0 mmol) y 2-guanidinobenzimidazol (1,57 g, 9,0 mmol) en benceno (25 ml) se sometió a reflujo en piridina (10 ml) durante 1 h. Después de evaporar la mayor parte de la piridina a presión reducida, el residuo se trató con tolueno caliente y se filtró el precipitado resultante. A continuación el precipitado se disolvió en agua:ácido acético a 9:1 (30 ml); la solución se filtró y el filtrado se neutralizó hasta pH 7 con tampón fosfato. Se formó un precipitado que después se recolectó y trituró con agua para dar el compuesto del título (0,42 g, 16%). ¹H RMN (300 MHz, d₆-DMSO) δ 11,5 (as, NH, 2H), 10,0 (as, NH, 2H), 8,6 (as, NH, 2H), 7,28-7,10 (m, 14H), 6,97 (dd, J= 6,0, 3,0 Hz, 4H); MS (ESI) m/z 525 [M+H]⁺; Anal. Calc. Para C₃₀H₂₄N₁₀·1/2 CH₃CO₂H·3/4H₂O: C, 65,37; H, 4,88, N, 24,65; Encontrado: C, 65,36; H 4,79; N, 24,48.

b)- Preparación del Compuesto 2- Bis{2,5-bis[2-benzimidazolimino]-3a,6a-difenil-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo-[4,5-d]imidazol-N,N'}cinc (II)

Una solución del compuesto del Ejemplo 2a (50 mg, 0,095 mmol) en 2 ml de metanol que contiene una gota de ácido fórmico se trató con una solución de hexahidrato de nitrato de cinc (31,0 mg, 0,104 mmol) en metanol (1 ml). La mezcla se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 18 h y después se centrifugó, decantó y aclaró con agua tres veces, para dar el compuesto del título en forma de un polvo blanco (35 mg). MS (ESI) m/z 1178 $[M]^+$, 589 $[M]^{++}$.

Ejemplo 3

Preparación del Compuesto 3- Bis{5-(2-benzimidazolimino)-2-[(5-metil-2-benzimidazolil)imino]-3a,6a-bis(2-piridil)-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo-[4,5-d]imidazol-N,N'}cinc (II)



a) Preparación del compuesto 3a - Sal de 5-(2-benzimidazolimino)-2-[(5-metil-2-benzimidazolil)imino]-3a,6a-bis(2-piridil)-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol bis(trifluoroacetato)

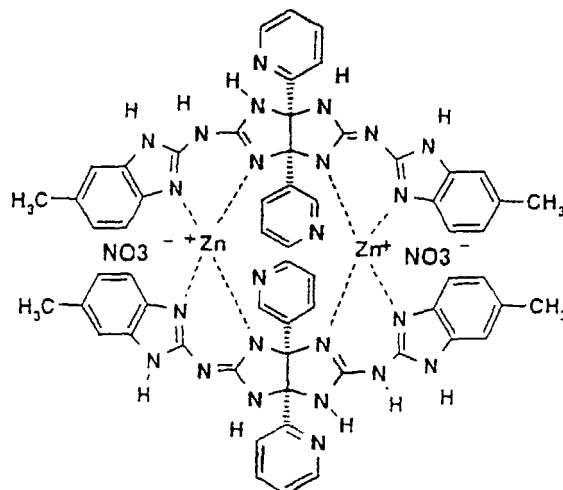
Una mezcla de 2,2'-piridilo (135 mg, 0,636 mmol), 2-guanidinobenzimidazol (92,8 mg, 0,530 mmol) y 5-metil-2-guanidinobenzimidazol (100 mg, 0,530 mmol) en metanol (3 ml) se trató con una solución de hidróxido sódico (38 mg, 0,95 mmol) en 0,5 ml de agua y la mezcla resultante se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 2 días. El material cristalino se filtró y purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa (Rainin Dynamaz, 5 μ M C18 columna: 21,4 mm x 25 cm, elución con gradiente acetonitrilo-agua que contiene 0,1% de ácido trifluoroacético) para dar el compuesto del título en forma de un polvo blanco (88 mg, 18%). ^1H RMN (300 MHz, d_6 -DMSO) δ 13,0 (as, NH, 4H), 9,8 (as, NH, 4H), 8,39 (d, J = 4,3 Hz, 2H), 7,64 (td, J = 7,8, 1,7 Hz, 2H), 7,57 (d, J = 7,8 Hz, 2H), 7,49-7,46 (m, 2H), 7,38-7,33 (m, 3H), 7,27 (s, 1H), 7,21-7,13 (m, 3H), 2,44 (s, 3H); MS (ESI) m/z 541 $[M+H]^+$.

b) Preparación del Compuesto 3- Bis{5-(2-benzimidazolimino)-2-[(5-metil-2-benzimidazolil)imino]-3a,6a-bis(2-piridil)-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol-N,N'}cinc (II)

Una solución del compuesto del Ejemplo 3a (70 mg, 0,091 mmol) en 10 ml de agua se trató con una solución de hexahidrato de nitrato de cinc (40 mg, 0,136 mmol) en agua (1 ml). La mezcla se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 1 d y después se centrifugó, decantó y aclaró con agua tres. El compuesto del título se obtuvo en forma de un polvo blanco (29 mg). Tiempo de retención HPLC 11,8 min (fase inversa, Beckman ultrasphere DOS columna 4,6 mm x 25 cm, elución por gradiente 20 min con 20:80 a 60:40 acetonitrilo:agua que contiene TFA 0,1% a 2 ml/min); MS (ESI) m/z 1210 $[M]^+$, 605 $[M]^{++}$.

Ejemplo 4

Preparación del Compuesto 4- Bis{2,5-bis[(5-metil-2-benzimidazolil)mino]-3a,6a-bis(2-piridil)-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol-N,N'}-cinc (II)



a) Preparación del compuesto 4a- 2,5-bis[(5-metil-2-benzimidazolil)imino]-3a,6a-bis(2-piridil)-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol

Una mezcla de 2,2'-piridilo (603 mg, 2,84 mmol) y 5-metil-2-guanidinobenzimidazol (489 mg, 2,58 mmol) en metanol (17 ml) se trató con una solución de hidróxido sódico (113,6 mg, 2,84 mmol) en 2,8 ml de agua. El compuesto del título se aisló en forma de un polvo gris (450 mg, rendimiento del 63%). Pf: 290-291°C (dec): Tiempo de retención HPLC 7,1 min (fase inversa, Beckman ultrasphere DOS columna 4,6 mm x 25 cm, elución por gradiente 20 min con 20:80 a 60:40 acetonitrilo:agua que contiene TFA 0,1% a 2 ml/min); ¹H RMN (300 MHz, d₆-DMSO) δ 11,3 (as, NH, 2H), 10,0 (as, NH, 2H), 8,5 (as, NH, 2H), 8,32 (d, J= 4,2 Hz, 2H), 7,54 (t, J= 7,6 Hz, 2H), 7,31 (d, J= 7,6 Hz, 2H), 7,16 (d, J= 7,8 Hz, 2H), 7,16-7,09 (m, 2H), 7,09 (s, 2H), 7,14 (as, 2H), 6,86 (d, J= 7,8 Hz, 2H), 2,34 (s, 6H); MS (ESI) m/z 555 [M + H]⁺.

b) Preparación del Compuesto 4- Bis{2,5-bis[(5-metil-2-benzimidazolil)mino]-3a,6a-(2-piridil)-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol-N,N'}-cinc (II)

Una solución del compuesto del Ejemplo 4a (50 mg, 0,091 mmol) en 10 ml de agua que contiene unas gotas de ácido fórmico se trató con una solución de hexahidrato de nitrato de cinc (40 mg, 0,136 mmol) en agua (1 ml). La mezcla se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 1 d y después se centrifugó, decantó y aclaró con agua tres veces. El compuesto del título se obtuvo en forma de un polvo blanco (19 mg). Tiempo de retención HPLC 13,3 min (fase inversa, Beckman ultrasphere DOS columna 4,6 mm x 25 cm, elución por gradiente 20 min con 20:80 a 60:40 acetonitrilo:agua que contiene TFA 0,1% a 2 ml/min); MS (ESI) m/z 1238 [M]⁺, 619 [M]⁺⁺.

Ejemplo 5

Composición de cápsula

Se produce una forma de dosificación para administrar un agonista de la presente invención del receptor de G-CSF mediante la carga de una cápsula de gelatina dura de dos piezas con los ingredientes en las proporciones que se muestran en la Tabla 1, que figura a continuación.

TABLA I

INGREDIENTES	CANTIDADES
Bis{2,5-bis[2-benzimidazolimino]-3a,6a-bis(2-piridil)- 1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol-N,N'}-cinc (II) (Compuesto 1)	25 mg
Lactosa	55 mg
Talco	16 mg
Estearato de magnesio	4 mg

Ejemplo 6

Composición parenteral inyectable

Se produce una forma inyectable para administrar un agonista de la presente invención del receptor de G-CSF mediante la agitación del 1,5% en peso de 2,5-bis[2-benzimidazolimino]-3a,6a-difenil-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol (Compuesto 2a) en 10% en volumen de propilenglicol en agua.

Ejemplo 7

Composición en comprimido

La sacarosa, el dihidrato de sulfato cálcico y un agonista de la presente invención del receptor de G-CSF, como se muestra en la Tabla II, que figura a continuación, se mezclan y granulan en las proporciones mostradas con una solución de gelatina al 10%. Los gránulos húmedos se criban secan, mezclan con almidón, talco y ácido esteárico, se criban y comprimen en un comprimido.

TABLA II

INGREDIENTES	CANTIDADES
2,5-Bis[2-benzimidazolimino]-3a,6a-bis(2-piridil)- 1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol- (Compuesto 1a)	20 mg
Dihidrato sulfato cálcico	30 mg
Sacarosa	4 mg
Almidón	2 mg
Talco	1 mg
Acido esteárico	0,5 mg

Aunque las formas de realización preferidas de la invención están ilustradas en lo que antecede, debe entenderse que la invención no se limita a las instrucciones precisas descritas en la presente memoria descriptiva y que el derecho a todas las modificaciones dentro del alcance de las reivindicaciones siguientes está reservado.

REIVINDICACIONES

1. Un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc seleccionado de:

Bis{2,5-bis[2-bencimidazolimino]-3a,6a-bis(2-piridil)-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol-N,N'}-cinc (II);

Bis{2,5-bis[2-bencimidazolimino]-3a,6a-difenil-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol-N,N'}-cinc (II);

Bis{5-(2-bencimidazolimino)-2-[(5-metil-2-bencimidazolil)imino]-3a,6a-bis(2-piridil)-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol-N,N'}-cinc (II); y

Bis{2,5-bis[(5-metil-2-bencimidazolil)imino]-3a,6a-bis(2-piridil)-1,2,3,3a,4,5,6,6a-octahidroimidazo[4,5-d]imidazol-N,N'}-cinc (II).

2. Una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc de la reivindicación 1.

3. Un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc de la reivindicación 1 para usar en terapia.

4. El uso de un ligando del receptor de G-CSF quelado con cinc de la reivindicación 1 en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de infecciones bacterianas y fúngicas.

FIG. 1

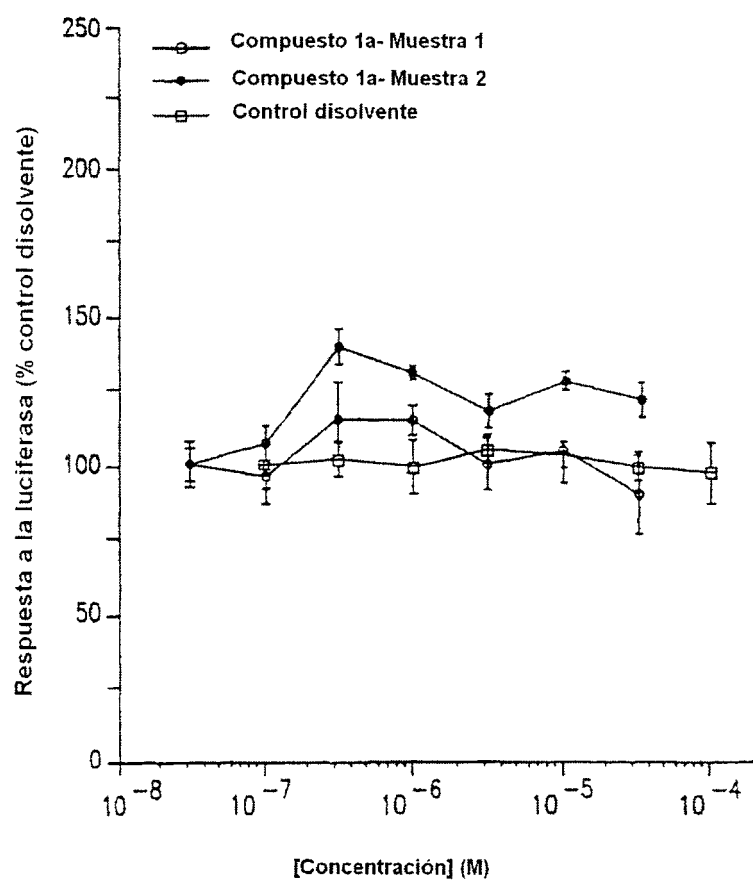
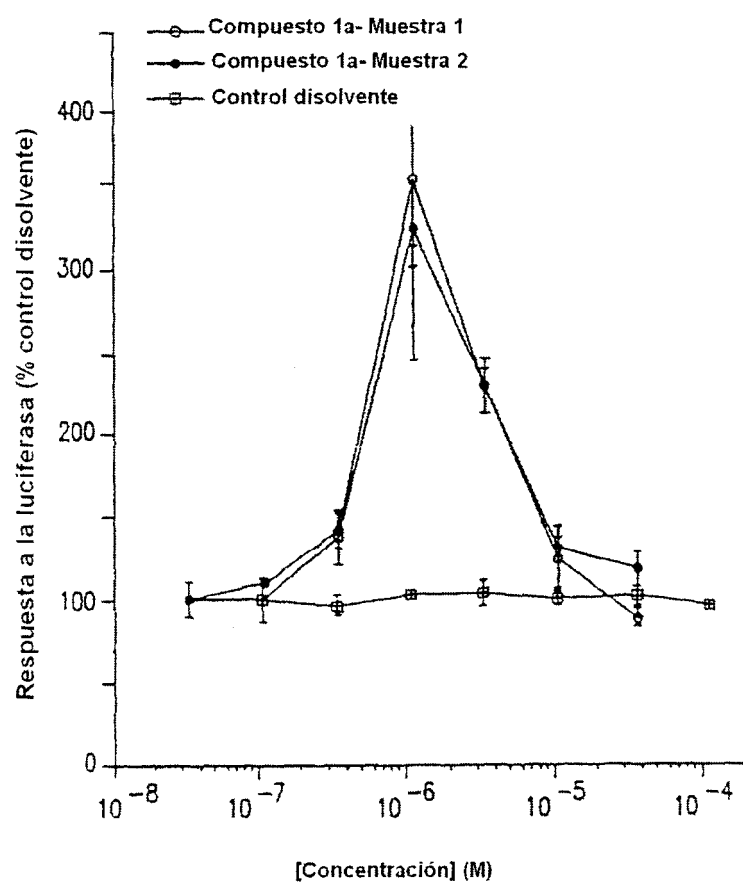


FIG. 2



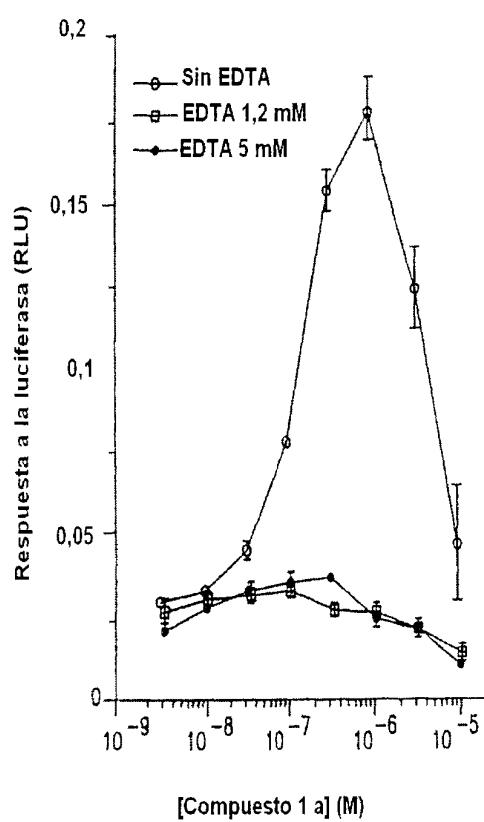


FIG. 3

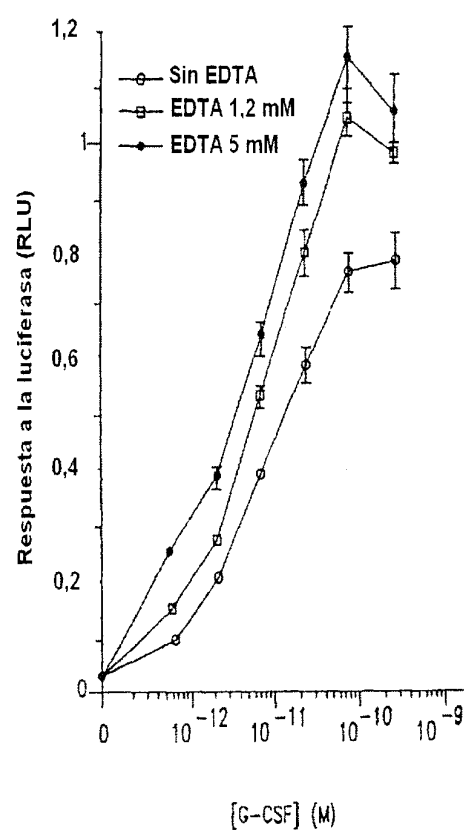


FIG. 4

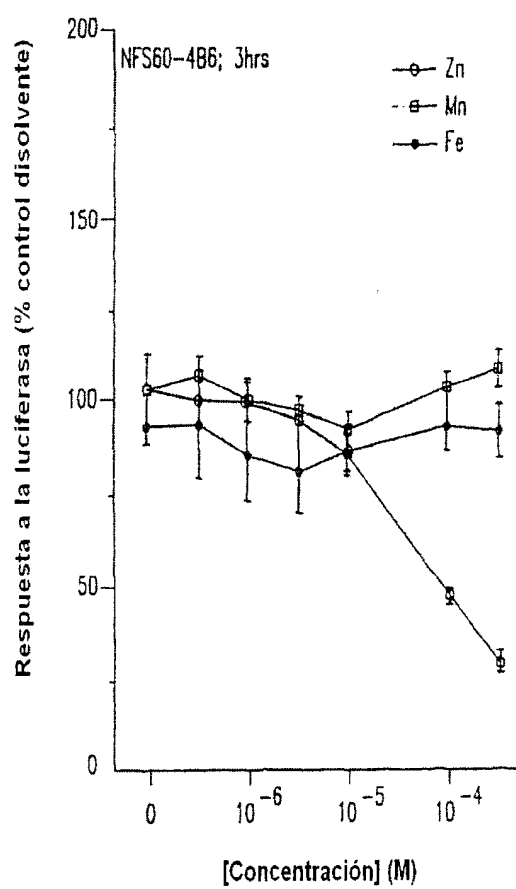


FIG. 5

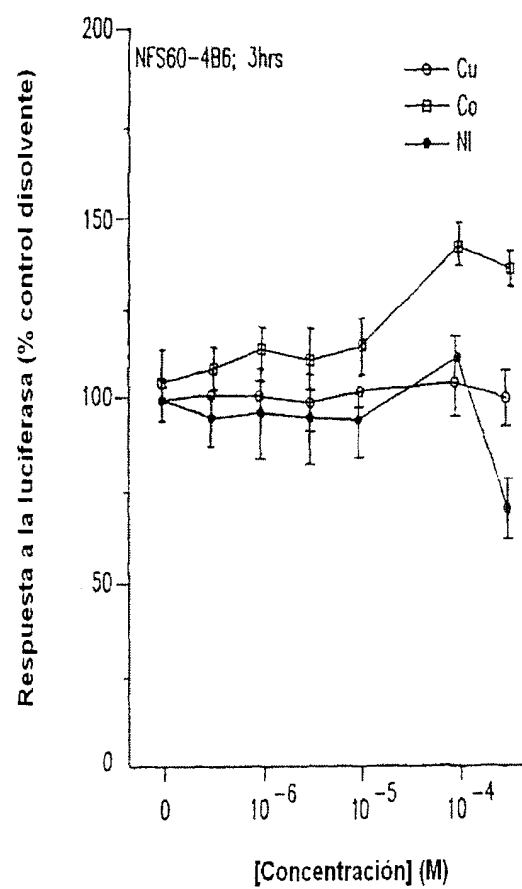


FIG. 6

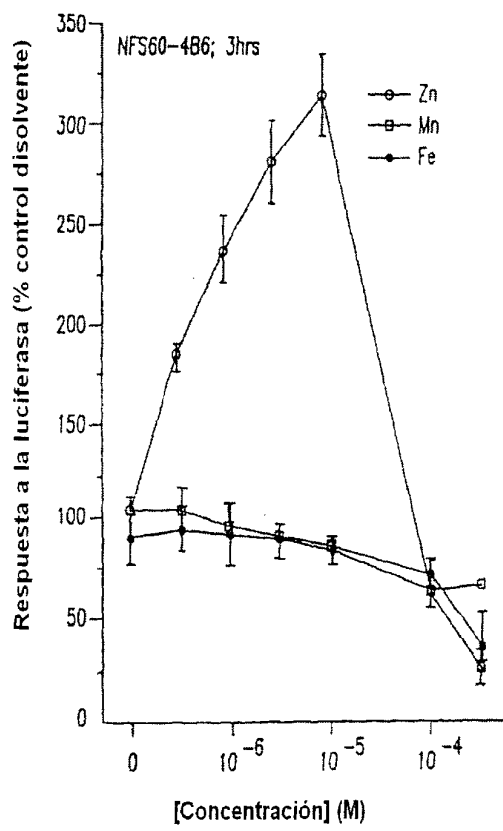


FIG. 7

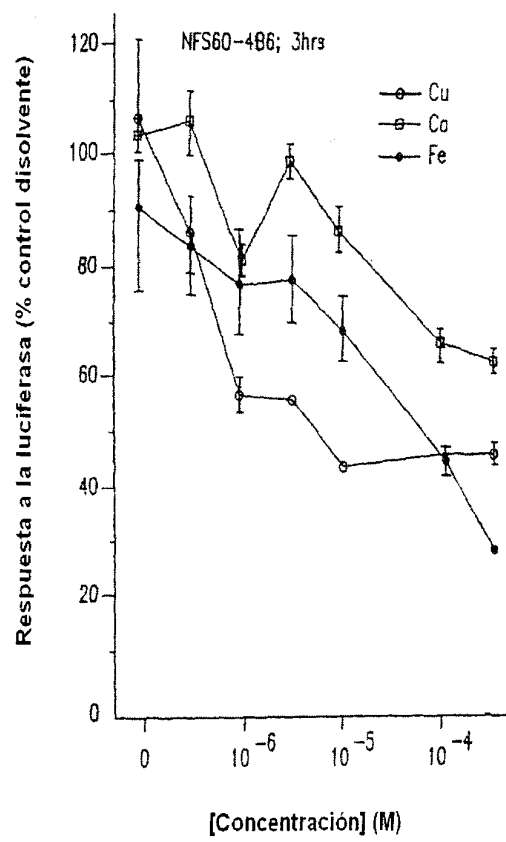


FIG. 8