



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 344 814**

51 Int. Cl.:

A61P 9/00 (2006.01)

A61P 9/10 (2006.01)

A61K 31/202 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08006250 .8**

96 Fecha de presentación : **01.03.2002**

97 Número de publicación de la solicitud: **1949937**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **30.07.2008**

54

Título: **Análogos de lipoxina como nuevos inhibidores de la angiogénesis.**

30

Prioridad: **02.03.2001 US 272931 P**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.09.2010

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.09.2010

73

Titular/es: **The Brigham and Women's Hospital
75 Francis Street
Boston, Massachusetts 02115, US**

72

Inventor/es: **Serhan, Charles N. y
Fierro, Iolanda M.**

74

Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 344 814 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

Análogos de lipoxina como nuevos inhibidores de la angiogénesis.

5 **Solicitud relacionada**

La presente solicitud reivindica prioridad de la Solicitud Provisional de EE.UU. N° 60/272.931, presentada el 2 de marzo de 2001, titulada "A Novel Inhibitor of Angiogenesis: Aspirin-Triggered-15R Lipoxin A₄".

10 **Antecedentes de la invención**

La angiogénesis es un proceso fundamental por el que se forman nuevos capilares a partir de vasos sanguíneos existentes. Este proceso desempeña funciones importantes en los acontecimientos fisiológicos tales como la formación del cuerpo lúteo, el desarrollo del embrión y la curación de heridas, incluidas la recuperación de la isquemia del miocardio y de la úlcera péptica (1). El crecimiento no regulado de los vasos sanguíneos puede contribuir al daño tisular en una gran cantidad de enfermedades tales como la artritis, la diabetes y la progresión tumoral (2). Las células endoteliales son normalmente quiescentes y se activan durante la respuesta angiogénica. Tras la estimulación, las células endoteliales pueden degradar su membrana basal y la matriz extracelular proximal, migrar de manera direccional, posteriormente dividirse y organizarse para formar capilares funcionales envueltos por una nueva lámina basal (3).

Hay una cantidad creciente de evidencias que demuestran que el cambio angiogénico está regulado por el equilibrio neto entre reguladores positivos y negativos del crecimiento de nuevos capilares (2). La persistencia de la neovascularización requiere un medio proangiogénico, con la expresión de factores angiogénicos que supere a la de los factores angiostáticos. Una variedad de péptidos pueden influir en este equilibrio, incluidos factores mitogénicos tales como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) (3), factores no mitogénicos (citocinas seleccionadas, quimiocinas CXC), y fragmentos internos de péptidos de angiotatina y endostatina (3). Ciertos eicosanoides también tienen potentes acciones biológicas en las células endoteliales. En conejos, PGE₂, PGR_{2a}, y prostacilina (PGI₂) estimulan la angiogénesis donde la serie E de prostaglandinas, en particular la PGE₁, es la más potente. PGE₂ es un potente inductor de la expresión de VEGF en fibroblastos sinoviales. Además de sus conocidas propiedades como vasodilatador y antiplaquetario, PGI₂ también puede inducir la expresión de genes de VEGF y la síntesis de proteínas (4).

Se ha informado recientemente que se requiere la actividad de la 12-lipooxigenasa y de uno de sus productos, 12 (S)-HETE, para las respuestas angiogénicas (5), y que 12R-HETE derivado de P450 estimula la angiogénesis a través de NF-κB (6). El gen de la ciclooxigenasa-2 (COX-2) en las células endoteliales sufre una rápida regulación positiva por medio de varios factores de crecimiento así como por inductores de la angiogénesis (7). A lo largo de estas líneas, los resultados usando tres modelos de células endoteliales diferentes muestran que COX-2 es un componente esencial de la angiogénesis, al menos *in vitro* (8). Se ha implicado a los fármacos antiinflamatorios no esteroideos tales como la aspirina (ASA) en la prevención de ciertos cánceres tales como los cánceres de pulmón y de colon (9, 10) que podría estar relacionada con la capacidad del ASA para reducir la angiogénesis (7).

El documento WO98/11049A desvela compuestos de 15-epi-lipoxina relacionados para inhibir la proliferación celular anormal tal como ocurre en la reestenosis, pero no desvela ninguno de los compuestos de acuerdo con la reivindicación 1.

El documento US-A-6090944 desvela compuestos estructuralmente no relacionados para el tratamiento de reestenosis en virtud de su actividad de inhibición en αβ3, αβ5 y/o αβ6, pero no desvela ningún uso de los compuestos mencionados en relación con el tratamiento de reestenosis.

El documento WO01/60778A desvela el uso de compuestos relacionados para tratar la inflamación arterial entre la que se menciona la reestenosis, pero no desvela ningún uso de los compuestos de acuerdo con la reivindicación 1 en relación con el tratamiento de reestenosis.

Por consiguiente, existe necesidad de composiciones que prevengan la angiogénesis, que estén dirigidas hacia el proceso de enfermedad, tal que la angiogénesis se prevenga o inhiba fisiológicamente. También existe necesidad de composiciones que induzcan la angiogénesis en tejidos que carecen de los requisitos o requerimientos fisiológicos esenciales para ser sostenibles.

Sumario

Los estados proliferativos tales como la inflamación crónica, las enfermedades isquémicas y el cáncer con frecuencia están acompañados por intensa angiogénesis, un proceso muy instrumentado que implica el brote de vasos, la migración, proliferación y maduración de células endoteliales. Las lipoxinas inducidas por aspirina (ATL), los equivalentes enantioméricos 15R de las lipoxinas (LX), son mediadores endógenos generados durante las respuestas multicelulares que muestran potentes acciones inmunomoduladoras. Sorprendentemente, se ha descubierto que las LX, las ATL y más específicamente, los análogos estables de ATL, 15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (denominada ATL-1), LXA₄, 15-epi-LXA₄ y 15-R/S-metil, LXA₄ son potentes inhibidores de la angiogénesis. Por ejemplo, ATL-1, LXA₄, 15-epi-LXA₄ y 15-R/S-metil, LXA₄ todas inhibieron la proliferación celular endotelial en el intervalo de 1-10 nM en aproximadamente un 50% en células estimuladas con cualquier factor de crecimiento endotelial vascular

(VEGF) a 3 ng/ml o leucotrieno D₄ (10 nM). Además, ATL-1 (en un intervalo de 10-100 nM) inhibió la quimiotaxis de células endoteliales inducida por VEGF (3 ng/ml). En un modelo de granuloma *in vivo* de angiogénesis inflamatoria, el tratamiento con ATL-1 (10 µg/ratón) redujo aproximadamente en un 50% el fenotipo angiogénico, como se evaluó tanto por formación de moldes vasculares como por fluorescencia. Juntos, estos resultados identificaron una nueva y potente acción previamente inadvertida de la 15-epi-LX inducida por la aspirina.

La presente invención se refiere al uso de compuestos de lipoxina según la reivindicación 1.

En el presente documento se desvelan procedimientos para la prevención, reducción o inhibición de la angiogénesis. El procedimiento se lleva a cabo por medio de la administración de una cantidad eficaz de LXA₄ y sus análogos, tales como 15-R/S metil, LXA₄, y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables a un sujeto que lo necesite. Como consecuencia de la acción del agente terapéutico, se previene o inhibe la angiogénesis en el sujeto.

En el presente documento se desvelan procedimientos para la prevención o inhibición de la angiogénesis. El procedimiento se lleva a cabo por medio de la administración de una cantidad eficaz de una lipoxina inducida por aspirina (ATL) (15-epi-LXA₄, tal como 15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (ATL-1)), y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables a un sujeto que lo necesite. Como consecuencia de la acción del agente terapéutico, se previene o inhibe la angiogénesis en el sujeto.

En el presente documento se desvelan procedimientos para la prevención o inhibición del crecimiento tisular de tumores sólidos que sufren neovascularización en un sujeto. El procedimiento se lleva a cabo por medio de la administración de una cantidad eficaz de una lipoxina inducida por aspirina (ATL) (15-epi-LXA₄, tal como 15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (ATL-1)), y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables, a un sujeto que lo necesite.

En el presente documento se desvelan procedimientos para la prevención o inhibición del crecimiento tisular de tumores sólidos que sufren neovascularización en un sujeto. El procedimiento se lleva a cabo por medio de la administración de una cantidad eficaz de LXA₄ y sus análogos, tales como 15-R/S metil, LXA₄, y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables, a un sujeto que lo necesite.

En el presente documento se desvelan procedimientos para inhibir o prevenir la presentación de neovascularización en un sujeto. El procedimiento se lleva a cabo por medio de la administración de una cantidad eficaz de LXA₄ y sus análogos, tales como 15-R/S metil, LXA₄, y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables, a un sujeto que lo necesite.

En el presente documento se desvelan procedimientos para inhibir o prevenir la presentación de neovascularización en un sujeto. El procedimiento se lleva a cabo por medio de la administración de una cantidad eficaz de una lipoxina inducida por aspirina (ATL) (15-epi-LXA₄, tal como 15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (ATL-1)), y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables, a un sujeto que lo necesite.

En el presente documento se desvelan procedimientos para tratar a un sujeto que presenta neovascularización en el tejido de la retina. La neovascularización en el tejido de la retina puede prevenirse o inhibirse administrando una cantidad eficaz de LXA₄ y sus análogos, tales como 15-R/S metil, LXA₄, y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables, a un sujeto que lo necesite.

En el presente documento se desvelan procedimientos para tratar a un sujeto que presenta neovascularización en el tejido de la retina. La neovascularización en el tejido de la retina puede prevenirse o inhibirse administrando una cantidad eficaz de una lipoxina inducida por aspirina (ATL) (15-epi-LXA₄, tal como 15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (ATL-1)), y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables, a un sujeto que lo necesite.

En el presente documento se desvelan procedimientos para tratar a un sujeto por la reestenosis en los tejidos en los que se presenta migración de células de músculo liso tras la angioplastia. La reestenosis puede prevenirse o inhibirse administrando una cantidad eficaz de LXA₄ y sus análogos, tales como 15-R/S metil, LXA₄, y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables, a un sujeto que lo necesite.

En el presente documento se desvelan procedimientos para tratar a un sujeto por la reestenosis en los tejidos en los que se presenta migración de células de músculo liso tras la angioplastia. La reestenosis puede prevenirse o inhibirse administrando una cantidad eficaz de una lipoxina inducida por aspirina (ATL) (15-epi-LXA₄, tal como 15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (ATL-1)), y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables, a un sujeto que lo necesite.

En el presente documento se desvelan procedimientos para reducir el suministro de sangre a los tejidos necesario para soportar el nuevo crecimiento del tejido en un sujeto. Esta reducción o eliminación del nuevo crecimiento no deseado de tejidos puede llevarse a cabo mediante la administración de una composición que comprende una cantidad eficaz de LXA₄ y sus análogos, tales como 15-R/S metil, LXA₄, y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables, a un sujeto que lo necesite.

En el presente documento se desvelan procedimientos para reducir el suministro de sangre a los tejidos necesario para soportar el nuevo crecimiento del tejido en un sujeto. Esta reducción o eliminación del nuevo crecimiento no deseado de tejidos puede llevarse a cabo mediante la administración de una composición que comprende una cantidad eficaz de una lipoxina inducida por aspirina (ATL) (15-epi-LXA₄, tal como 15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (ATL-1)), y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables, a un sujeto que lo necesite.

En el presente documento se desvelan procedimientos para la prevención, disminución o inhibición de la producción de nuevos vasos en un sujeto asociada con o estimulada por la producción o liberación de VEGF. El procedimiento se lleva a cabo por medio de la administración de una cantidad eficaz de un agente terapéutico, incluidos LXA₄ y sus análogos, tales como 15-R/S metil, LXA₄, y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables a un sujeto que lo necesite. Como alternativa, puede usarse una cantidad eficaz de una lipoxina inducida por aspirina (ATL) (15-epi-LXA₄, tal como 15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (ATL-1)), y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables. Como consecuencia de la acción del agente terapéutico, se previene o inhibe el crecimiento de nuevos vasos asociado con la producción de VEGF y por consiguiente el crecimiento de las células endoteliales en el sujeto. Por ejemplo, VEGF está asociado con la génesis de tumores, la linfangiogénesis y los trastornos proliferativos. Los compuestos usados en la invención pueden inhibir, reducir o prevenir la metástasis de tumores.

Sorprendentemente, los isómeros configuracionales de LXA₄, los análogos de LXA₄ y análogos de ATL, LXB₄ y análogos de LXB₄ y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables, proporcionan los efectos opuestos con respecto a la revascularización de tejidos por los compuestos anteriormente identificados usados en la invención. Es decir, se ha descubierto sorprendentemente que los análogos de LXA₄ y LXB₄ tienen la capacidad para estimular la regeneración y el crecimiento del tejido vascular o epitelial en tejidos que necesitan tal estimulación. Esto es especialmente importante en los lugares de fijación de tejido de injertos, tejidos construidos por ingeniería y grupos protésicos.

Breve descripción de los dibujos

La invención se entenderá de manera más completa a partir de la siguiente descripción detallada conjuntamente con los dibujos que acompañan, en los que:

La Figura 1 demuestra que ATL-1 inhibe la proliferación de HUVEC estimulada por VEGF. Se sembraron placas de cultivo de 96 pocillos con células HUVEC (5×10^3) y se estimuló la proliferación celular con VEGF 3 ng/ml. Tres días después del tratamiento, se midió el número de células usando el ensayo de MTT. Los resultados están expresados como inhibición por ciento de la proliferación con relación al vehículo y representan la media $\pm$ EE para cuatro experimentos independientes realizados por triplicado. *Cuadro inserto*: Experimento representativo que muestra el curso del tiempo de la proliferación celular inducida por VEGF 3 ng/ml (triángulo relleno) ó 10 ng/ml (cuadrado rellenos). Vehículo (círculos abiertos) y ATL-1 (100 nM) (triángulo abierto).

La Figura 2 demuestra que ATL-1, así como LXA₄, 15-epi-LXA₄ y 15-R/S-metil, LXA₄ cada uno inhiben la quimiotaxis de las células endoteliales. (A) La quimiotaxis se inició por medio de la adición de VEGF (3 ng/ml) o ATL-1 (100 nM) al compartimiento inferior de una cámara de quimiotaxis de 48 pocillos. Los resultados están expresados como porcentaje de migración celular comparado con el vehículo solo y representan la media $\pm$ EE para tres experimentos independientes realizados por triplicado. ($P < 0,05$). (B) Se incubaron células HUVEC con vehículo o con las concentraciones indicadas de ATL-1 (15 minutos, 37°C) y se añadieron al compartimiento superior de la microcámara (1×10^6 pocillos). La quimiotaxis se inició mediante la adición de VEGF (3 ng/ml) al compartimiento inferior. Los resultados están expresados como inhibición por ciento de la migración con relación al VEGF para un experimento representativo realizado por triplicado.

La Figura 3 es una representación gráfica que demuestra la inhibición de la proliferación de células HUVEC. (A) ATL-1 inhibe la proliferación de células HUVEC estimulada con LTD₄. Se sembraron células HUVEC (5×10^3) en placas de cultivo de 96 pocillos, se estimuló la proliferación celular con LTD₄ 10 nM, y se determinó el número de células después de 3 días usando MTT. (B), proliferación celular inducida por LTD₄ y LTB₄ dependiente de la concentración. Los resultados están expresados como media $\pm$ EE para cuatro experimentos independientes realizados por triplicado.

La Figura 4 demuestra que ATL-1 inhibe el fenotipo angiogénico *in vivo*. (A) Índice vascular (IV = mg de colorante carmín/mg de peso de tejido) en bolsa de aire murina en el día 6. Los animales recibieron una inyección local de ATL-1 (10 μ g /bolsa) o vehículo inmediatamente antes de VEGF (1 μ g/bolsa), 24 horas tras la elevación de la bolsa. Los resultados están expresados como la media $\pm$ EE para $n = 4$ animales por grupo. *Significa diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$) de VEGF solo; (B) Histología de inmersión con aceite de cedro de la bolsa de aire. Se realizaron moldes vasculares de colorante carmín en bolsas de aire en el día 6 de ratones tratados localmente con vehículo, ATL-1 (10 μ g), VEGF (1 μ g) o VEGF más ATL-1. El tejido se fijó con etanol y se aclaró en aceite de cedro.

La Figura 5 representa la acción antiangiogénica de ATL-1: microscopía de fluorescencia. Fotomicrografías de fluorescencia representativas que muestran la acción antiangiogénica de ATL-1 (10 μ g/bolsa de aire) en la bolsa de aire murina (véase procedimientos).

La Figura 6 son fotomicrografías de una bolsa de aire murina. Inmunohistoquímica para CD31 de la bolsa de aire murina. Se tiñeron secciones de bolsas de aire incluidas en parafina para CD31 de ratones como en las Figuras 4 y 5 y tratados con vehículo solo (A), análogo solo (B), ratones tratados con VEGF (C), y ratones tratados con VEGF más ATL (D). Los resultados son representativos de ocho ratones separados, cada uno por duplicado. El aumento es de 200 X y peroxidasa del rábano picante con contratinción de hematoxilina.

Descripción detallada

Las características y otros detalles de la invención se describirán a continuación más particularmente y se señalarán en las reivindicaciones.

Las abreviaturas usadas en la presente solicitud incluyen las siguientes y se incluyen en el presente documento por conveniencia. ASA, aspirina; ATL, 15-epi-lipoxinas inducidas por aspirina; ATL-1, 15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄; COX, ciclooxigenasa; HETE, ácido hidroxieicosatetraenoico; HUVEC, células endoteliales de vena de cordón umbilical humano; IL, interleucina; LO, lipooxigenasa; LT, leucotrieno; LX, lipoxina; LXA₄, ácido 5S, 6R, 15S-trihidroxi-7,9,13-trans-11-cis-eicosatetraenoico; 15-epi-LXA₄, ácido 5S, 6R, 15R-trihidroxi-7,9,13-trans-11-cis-eicosatetraenoico; 15-R/S-metil, LXA₄, metiléster del ácido 5S, 6R, 15R/S-trihidroxi-15-metil-7,9,13-trans-11-cis-eicosatetraenoico; LXB₄, ácido 5S, 14R, 15S-trihidroxi-6,8,12-trans-10-cis-eicosatetraenoico; MTT, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio; PBS, disolución salina tamponada de fosfato; PG, prostaglandina; PMN, neutrófilos; VEGF, factor de crecimiento endotelial vascular.

Debe entenderse que, en la presente memoria descriptiva, se hace referencia frecuentemente a los compuestos terapéuticos de las invenciones como ésteres, por ejemplo, ATL-1 como un éster carboxílico, es decir, metiléster. Sin embargo, todas las sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables, incluido el ácido carboxílico, se consideran dentro del alcance de la invención para los compuestos de LXA₄, ATL y LXB₄. Por conveniencia, esta terminología se ha minimizado a lo largo de la descripción pero debe considerarse como parte de la invención. Además, debe entenderse que los términos LXA₄, 15-epi-LXA₄ y 15-R/S-metil, LXA₄ también incluyen todas las sales, ésteres, amidas profármacos y ácidos carboxílicos farmacéuticamente aceptables.

Además, el(los) grupo(s) hidroxilo de ATL, LXA₄, y LXB₄ pueden protegerse por medio de diversos grupos protectores, tales como los conocidos en la técnica. Un experto en la técnica puede determinar fácilmente qué grupo(s) protector(es) puede(n) ser útil(es) para la protección del(los) grupo(s) hidroxilo. Los procedimientos convencionales son conocidos en la técnica y están descritos más ampliamente en la bibliografía. Por ejemplo, el experto en la técnica puede seleccionar los grupos protectores adecuados y están descritos en Green y Wuts, "Protecting Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, 1991. Los grupos protectores de preferencia incluyen los grupos TMS o TIPPS, y de preferencia grupos acetato o propionato.

Por ejemplo, puede tratarse uno o más grupos hidroxilo con una base débil, tal como trietilamina en presencia de un cloruro ácido o cloruro de sililo para facilitar la reacción entre el ión hidroxilo y el haluro. Como alternativa, puede hacerse reaccionar un haluro alquilo con el ión hidroxilo (generado por una base tal como diisopropilamida de litio) para facilitar la formación del éter.

Debe entenderse también que no todos los grupos hidroxilo necesitan estar protegidos. Pueden protegerse uno, dos o los tres grupos hidroxilo. Esto puede lograrse por medio de la elección estequiométrica de los reactivos usados para proteger los grupos hidroxilo. Los procedimientos conocidos en la técnica pueden usarse para separar los compuestos hidroxilo mono, di- o tri-protectidos, por ejemplo, HPLC, LC, cromatografía de resolución rápida, cromatografía de exclusión molecular en gel, cristalización, destilación, etc.

Una ventaja de proteger uno o más grupos hidroxilo de compuestos de ATL, LXA₄ o LXB₄, por ejemplo, por medio de acetatos, es la capacidad para retardar la captación metabólica completa del(los) compuesto(s). Este es un medio por el que el(los) compuesto(s) puede(n) permanecer activo(s) durante un período de tiempo prolongado ya que el cuerpo del sujeto elimina el grupo protector del hidroxilo bajo condiciones fisiológicas normales. Además, al proteger uno o más de los grupos hidroxilo de estos compuestos, la hidrólisis del grupo protector permite que la medicación entre en la ruta bioquímica del sujeto antes de la degradación del compuesto original, sin protección.

Los procedimientos para preparar análogos de lipoxinas (ATL, LXA₄, o LXB₄) son conocidos en la técnica. Por ejemplo, las Patentes de EE.UU. N° 4.576.758, 4.560.514, 5.079.261, 5.049.681, 5.441.951, 5.648.512, 5.650.435, 6.048.897, 6.100.296, 6.177.468 y 6.316.648 y las Patentes Japonesas N° 3.227.922, 63.088.153, 62.198.677 y 1.228.994 desvelan enfoques para preparar análogos de lipoxinas. Las publicaciones de K. C. Nicolaou y col. incluyen enfoques para diversos compuestos de lipoxinas. (Por ejemplo véase, Nicolaou, K. C. y col. *Biochim. Biophys. Acta* 1003:44-53; Nicolaou, K. C. y col. *J. Org. Chem.* 54:5527-5535; y Nicolaou, K. C. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 30:1100-1116. Otras referencias de la bibliografía para la preparación de análogos de lipoxinas incluyen Takanashi, T., S. Fiore, J. F. Maddox, H. R. Brady, N. A. Petasis, y C. N. Serhan. 1997. Aspirin triggered 15-epi-lipoxin A₄ and LXA₄ stable analogs are potent inhibitors of acute inflammation: Evidence for antiinflammatory receptors. *J. Exp. Med.* 185:1693-1704 y Serhan, Charles N., Maddox, Jane F., Petasis, Nicos A., Akritopoulou-Zanze, Irini, Papayianni, Aikaterina, Brady, Hugh R., Colgan, Sean P., y Madara, James L. (1995), *Biochemistry*, 34, páginas 14609-14614.

El mecanismo de acción terapéutico de la aspirina incluye la inhibición de los prostanoïdes derivados de la COX (10). Se descubrió que la COX-2, cuando se acetila por ASA, bloquea la capacidad de la COX-2 para generar prostanoïdes, pero esta enzima permanece activa en las células endoteliales, en las células epiteliales y en las células mononucleares e inicia la biosíntesis de nuevos productos de interacciones intercelulares o de biosíntesis transcelulares denominados 15-epi-lipoxinas inducidas por aspirina (ATL) (11). Estos nuevos mediadores lipídicos endógenos son los epímeros del carbono 15 de LX que llevan su alcohol 15 en la configuración R comparado con su lipoxina nativa (LX) equivalente y parece imitar la mayoría sino todas las bioactividades endógenas de la LX.

Hasta la fecha las acciones de las ATL parecen ser más importantes en la regulación de las respuestas inflamatorias, ya que se generan durante las interacciones intercelulares que pueden incluir, por ejemplo, células endoteliales y neutrófilos *in vivo* (12), y muestran potentes acciones inhibitoras en varios acontecimientos fundamentales y estratégicos en la inflamación (12-14). Las acciones de las LX y ATL incluyen la inhibición de la adhesión y trans migración de los neutrófilos, y por consiguiente pueden servir como señales contra reguladoras para limitar y/o regular la acumulación de leucocitos que son potencialmente operativos en la atenuación y resolución de los sitios inflamatorios (14). Como las LX se generan e inactivan rápidamente en el microentorno local, para investigar estas acciones *in vivo*, se diseñaron análogos estables de ambas lipoxinas, es decir, LXA₄ y ATL que potencian las biodisponibilidades y las bioactividades de estos compuestos naturales comparados con sus productos nativos (14) y además probaron tener aproximadamente 100 veces la potencia de ASA (13). La presente invención establece que las LXA₄ y ATL pueden regular la angiogénesis, una aplicación previamente desconocida y sorprendente de estos compuestos. Por ejemplo, usando un análogo sintético de ATL metabólicamente más estable [15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (denominado ATL-1)], los compuestos de ATL y LXA₄, incluidos, 15-epi-LXA₄ o 15-R/S-metil, LXA₄ y LXA₄ probaron ser potentes eicosanoides angiostáticos *in vivo*, identificando una nueva actividad para estos mediadores endógenos que está en gran contraste con las acciones de otros eicosanoides y es importante en varias enfermedades humanas.

En el presente documento se desvelan procedimientos para la prevención, disminución o inhibición de la angiogénesis. El tratamiento se lleva a cabo por medio de la administración de una cantidad eficaz de LXA₄ y sus análogos, tales como 15-R/S metil, LXA₄, y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables a un sujeto que lo necesite. Como consecuencia de la acción del agente terapéutico, se previene, reduce o inhibe la angiogénesis en el sujeto. Más específicamente, los agentes terapéuticos pueden usarse en el tratamiento de los estados de enfermedad y afecciones de los procesos angiogénicos de enfermedad como se desvelan a continuación. Más específicamente, los compuestos terapéuticos de LXA₄ y ATL descritos a lo largo de la memoria descriptiva pueden usarse para el tratamiento de la reestenosis, el crecimiento tisular de tumores sólidos, la neovascularización, por ejemplo, el tejido de la retina, y para reducir el suministro de sangre a los tejidos, necesario para soportar el nuevo crecimiento de tejido en un sujeto.

En el presente documento se desvelan procedimientos para la prevención, reducción o inhibición de la angiogénesis en los tejidos de un sujeto. El procedimiento se lleva a cabo por medio de la administración de una cantidad eficaz de una lipoxina inducida por aspirina (ATL) (15-epi-LXA₄, tal como 15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ (ATL-1), y sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables a un sujeto que lo necesite. Como consecuencia de la acción del agente terapéutico, se previene o inhibe la angiogénesis en el sujeto.

En el presente documento se desvela un procedimiento para inhibir de manera general la angiogénesis en los tejidos, que de este modo inhiben o previenen acontecimientos en los tejidos que dependen de la angiogénesis. Por lo general, el procedimiento comprende la administración al tejido de una composición que comprende una cantidad que inhibe la angiogénesis de, por ejemplo, ATL-1, LXA₄, 15-epi-LXA₄ o 15-R/S-metil, LXA₄.

Según se usa en el presente documento, el término "angiogénesis" significa la formación de nuevos vasos sanguíneos en un tejido u órgano. Bajo condiciones fisiológicas normales, los seres humanos o los animales sólo sufren angiogénesis en limitadas situaciones muy específicas. Por ejemplo, la angiogénesis está asociada con la curación de heridas, con el desarrollo fetal y embrionario y con la formación del cuerpo lúteo, el endometrio y la placenta. Los aspectos bioquímicos de la angiogénesis están asociados con un sistema muy regulado de estimuladores e inhibidores angiogénicos. Se ha encontrado que la angiogénesis controlada está alterada en ciertos estados de enfermedad y, en muchos casos, el daño patológico asociado con la enfermedad está relacionado con la angiogénesis descontrolada.

Se cree que los bioprocesos de la angiogénesis controlada y descontrolada se presentan de manera similar. Las células endoteliales y los pericitos, rodeados por una membrana basal, forman vasos sanguíneos capilares. La erosión de la membrana basal promueve la angiogénesis por medio de enzimas liberadas por las células endoteliales y los leucocitos. Las células endoteliales, que cubren el lumen de vasos sanguíneos, atraviesan a continuación la membrana basal. Los estimulantes angiogénicos inducen a las células endoteliales a migrar a través de la membrana basal erosionada. Las células que migran forman una ramificación desde los vasos sanguíneos originales, donde las células endoteliales sufren mitosis y proliferan. Las ramificaciones endoteliales pueden mezclarse unas con otras para formar bucles capilares, creando un nuevo vaso sanguíneo. En estado de enfermedad, la prevención de la angiogénesis podría evitar el daño causado por la invasión del nuevo sistema microvascular.

La angiogénesis no regulada, persistente puede presentarse en una multiplicidad de estados de enfermedad, metástasis tumorales y crecimiento anormal por células endoteliales y soporta el daño patológico que se observa en estas afecciones. Los diversos estados patológicos creados por la angiogénesis no regulada se han agrupado juntos como enfermedades dependientes o asociadas a la angiogénesis. La presente invención proporciona tratamientos que están

dirigidos a controlar los procesos angiogénicos dando lugar de este modo a la anulación o mitigación de estas enfermedades. Con excepción de la curación de heridas traumáticas, la formación del cuerpo lúteo y la embriogénesis, se cree que los procesos de angiogénesis están asociados con procesos de enfermedad no deseados y frecuentemente con riesgo para la vida y por consiguiente, el uso de los presentes procedimientos terapéuticos son selectivos para la enfermedad, es decir, la angiogénesis, y no tienen efectos secundarios dañinos.

Las siguientes enfermedades angiogénicas pueden tratarse mediante el uso de las ATL mencionadas anteriormente, tales como ATL-1 o LXA₄ tal como 15-R/S-metil, LXA₄. Estas enfermedades angiogénicas incluyen, pero no se limitan a, las siguientes:

Un ejemplo de una enfermedad mediada por la angiogénesis es la enfermedad ocular neovascular. Esta enfermedad se caracteriza por la invasión de nuevos vasos sanguíneos en las estructuras del ojo tales como la retina o la córnea. Es tal vez, una de las causas más comunes de ceguera y está involucrada en más de veinte enfermedades del ojo. Por ejemplo, en la degeneración macular relacionada con la edad, los problemas visuales asociados están causados por un crecimiento de los capilares de la coroides a través de defectos en la membrana de Bruch con proliferación de tejido fibrovascular debajo del epitelio del pigmento de la retina. El daño angiogénico también está asociado con la retinopatía diabética, la retinopatía del prematuro, el rechazo de injertos de córnea, el glaucoma neovascular y la fibroplasia retrolental. Otras enfermedades asociadas con la neovascularización de la córnea incluyen, pero no se limitan a, déficit de Vitamina A, uso excesivo de lentillas de contacto, queratitis atópica, queratitis límbica superior, queratoconjuntivitis epidémica, queratitis seca de pterigión, sjogrens, acné rosácea, degeneración lipídica, quemaduras químicas, úlceras bacterianas, úlceras fúngicas, flictenulosis, sífilis, infecciones por Mycobacterias, infecciones por Herpes simplex, infecciones por Herpes zoster, sarcoidosis de Wegeners, escleritis, síndrome de Steven-Johnson, queratotomy radial penfigoide, infecciones por protozoos, sarcoma de Kaposi, úlcera de Mooren, degeneración marginal de Terrien, queratolisis marginal, artritis reumatoide, lupus sistémico, poliarteritis, trauma y rechazo de injerto de córnea.

Las enfermedades asociadas con la neovascularización de la retina/coroides incluyen, pero no se limitan a, retinopatía diabética, oclusión venosa, oclusión arterial, enfermedad obstructiva de la carótida, uveítis/vitritis crónica, infecciones por micobacterias, enfermedad de Lyme, eritematosis de lupus sistémico, degeneración macular, anemia de células falciformes, sarcoides, sífilis, pseudoxantoma elástico, enfermedad de Paget, retinopatía del prematuro, enfermedad de Eales, enfermedad de Best, miopía, foseta papilar, enfermedad de Stargart, pars planitis, desprendimiento de retina crónico, síndromes de hiperviscosidad, toxoplasmosis, enfermedad de Bechet, infecciones que causan una retinitis o coroiditis, presunta histoplasmosis ocular, traumas y complicaciones posteriores al láser. Otras enfermedades incluyen, pero no se limitan a, enfermedades asociadas con rubeosis y enfermedades causadas por la proliferación anormal de tejido fibrovascular o fibroso incluidas todas las formas de vítreo retinopatía proliferativa.

Una enfermedad aún más prevalente en la que se cree que está involucrada la angiogénesis es la artritis reumatoide. Por ejemplo, los vasos sanguíneos en el revestimiento sinovial de las articulaciones sufren angiogénesis. Además de formar nuevas redes vasculares, las células endoteliales liberan factores y especies de oxígeno reactivo que dan lugar al crecimiento del pannus y a la destrucción del cartílago. Se cree que los factores involucrados en la angiogénesis pueden contribuir de manera activa al estado de inflamación crónica de la artritis reumatoide y pueden ayudar a mantenerlo.

Se cree que los factores asociados con la angiogénesis también pueden tener un papel en la osteoartritis. La activación de los condrocitos por los factores relacionados con la angiogénesis contribuye a la destrucción de la articulación. En un estadio posterior, los factores angiogénicos pueden promover la formación de hueso nuevo. La presente invención proporciona intervención terapéutica que previene la destrucción del hueso y puede detener el progreso de la enfermedad y proporciona alivio a las personas que sufren artritis.

Se sabe que la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn tienen cambios histológicos con crecimiento de nuevos vasos sanguíneos en los tejidos inflamados. La bartonelosis puede dar como resultado un estadio crónico que está caracterizado por la proliferación de células endoteliales vasculares. Un papel patológico aún más insidioso asociado con la angiogénesis puede encontrarse en la arteriosclerosis. Se ha demostrado que las placas formadas en el lumen de los vasos sanguíneos tienen actividad estimuladora de la angiogénesis.

Una enfermedad angiogénica frecuente en la niñez es el hemangioma. Por lo general, los tumores asociados con esta enfermedad son benignos y remiten sin intervención quirúrgica. En casos más graves, los tumores crecen y crean complicaciones clínicas. Las hemangiomatosis, formas sistémicas de hemangiomas, tienen una alta tasa de mortalidad. Existen hemangiomas resistentes a la terapia que no pueden tratarse con los tratamientos actualmente en uso.

La angiogénesis también es responsable del daño que se encuentra en las enfermedades hereditarias tales como la enfermedad de Osler-Weber-Rendu, o la telangiectasia hemorrágica hereditaria. Estas enfermedades se caracterizan por múltiples angiomas pequeños, tumores de vasos sanguíneos o linfáticos. Los angiomas se encuentran en la piel y en las membranas mucosas, con frecuencia están acompañados por epistaxis (sangrado de la nariz) o sangrado gastrointestinal y algunas veces con fistulas arteriovenosas pulmonares o hepáticas.

Muy importante es el(los) estado(s) de enfermedad asociado(s) con el(los) cáncer(es). Con frecuencia, el cáncer está asociado con la angiogénesis y se identifica por la formación de un tumor sólido y la metástasis. Los factores angiogénicos se asocian con varios tumores sólidos tales como el neuroblastoma, los rhabdomyosarcomas, el retinoblastoma, el sarcoma de Ewing y el osteosarcoma. Se sabe que un tumor no puede expandirse sin un suministro de sangre

para proporcionar nutrientes y eliminar los residuos celulares. Los tumores en los que la angiogénesis es importante incluyen tumores sólidos y tumores benignos tales como el neuroma acústico, neurofibroma, tracoma y granulomas. La prevención o inhibición de la angiogénesis podría prevenir o detener el crecimiento de estos tumores y la posterior afección degenerativa causada por la presencia del tumor.

La angiogénesis también se ha asociado con tumores de origen sanguíneo incluidas las leucemias, cualquiera de las diversas enfermedades neoplásicas agudas o crónicas de la médula ósea en las que se produce proliferación descontrolada de glóbulos blancos, usualmente acompañada por anemia, deterioro de la coagulación sanguínea, y agrandamiento de los nódulos linfáticos, el hígado y el bazo. Se cree que la angiogénesis es significativa como un factor causante de las anormalidades en la médula ósea que dan lugar a tumores análogos a las leucemias.

La angiogénesis es importante en dos estadios de la metástasis tumoral. El primer estadio donde la estimulación de la angiogénesis es importante es en la vascularización del tumor que permite a las células tumorales entrar en el torrente sanguíneo y circular a través del cuerpo. Una vez que las células tumorales dejan el sitio primario, y encuentran un sitio secundario de metástasis, debe producirse la angiogénesis antes de que el nuevo tumor pueda crecer y expandirse. Por consiguiente, la prevención de la angiogénesis podría prevenir la metástasis de tumores y contener el crecimiento neoplásico en el sitio primario.

La presente invención desvela el uso en combinación con otras terapias tales como la quimioterapia convencional dirigida contra los tumores sólidos y las metástasis. Las ATL, tales como ATL-1 o LXA₄, tal como 15-R/S-metil, LXA₄, pueden administrarse durante o tras la quimioterapia. En una forma de realización de preferencia, el fármaco debe administrarse cuando el tejido tumoral está respondiendo a la agresión tóxica cuando el tejido vascular está reorganizándose para suministrar sangre y nutrientes al tejido tumoral. Además, el uso de las ATL, tales como ATL-1 o LXA₄, puede usarse como un tratamiento profiláctico tras la extirpación quirúrgica de un tumor para prevenir la presentación de angiogénesis en el lugar del tratamiento.

El conocimiento del papel de la angiogénesis en el mantenimiento y en la metástasis de tumores ha dado lugar a un indicador del pronóstico del cáncer de mama. La cantidad de neovascularización hallada en el tumor primario se determinó contando la densidad de los microvasos en el área de la neovascularización más intensa en el carcinoma de mama invasivo. Se encontró que un alto nivel de densidad microvascular se correlaciona con la recurrencia de los tumores. El control de la angiogénesis por medios terapéuticos podría dar lugar posiblemente al cese de la recurrencia de los tumores.

La angiogénesis también está implicada en procesos fisiológicos normales tales como la reproducción y la curación de heridas. La angiogénesis es una etapa importante en la ovulación y también en la implantación de la blástula tras la fertilización. La prevención de la angiogénesis podría usarse para inducir la amenorrea, para bloquear la ovulación o para evitar la implantación de la blástula.

En la curación de heridas, la reparación excesiva o la fibroplasia puede ser un efecto secundario perjudicial de procedimientos quirúrgicos y se puede producir o exacerbar por medio de la angiogénesis. Las adherencias son una complicación frecuente de la cirugía y dan lugar a problemas tales como la obstrucción del intestino delgado.

La reestenosis es un proceso de migración y proliferación de células de músculo liso (SMC) en el sitio de la angioplastia coronaria transluminal percutánea que dificulta el éxito de la angioplastia. La migración y la proliferación de las SMC durante la reestenosis pueden considerarse un proceso de angiogénesis que es inhibido por los presentes procedimientos. Por consiguiente, la invención también contempla la inhibición, la reducción o la prevención de la reestenosis al inhibir, reducir o prevenir la angiogénesis según los presentes procedimientos en un sujeto tras los procedimientos de la angioplastia. Para la inhibición o la prevención de la reestenosis, puede administrarse una ATL, tal como ATL-1 o una LXA₄, tal como 15-R/S-metil, LXA₄, de preferencia por medio de inyección intravenosa, varios días antes de la operación o después del procedimiento de angioplastia durante desde aproximadamente 2 hasta aproximadamente 28 días, y más típicamente durante aproximadamente los primeros 14 días posteriores al procedimiento.

El término “sujeto” según se utiliza en el presente documento se refiere a cualquier organismo vivo en el que se provoca una respuesta angiogénica. El término sujeto incluye, pero no se limita a, seres humanos, primates no humanos tales como chimpancés y otros monos y especies de monos; animales de granja tales como ganado bovino, ovejas, cerdos, cabras y caballos; mamíferos domésticos tales como perros y gatos; animales de laboratorio incluidos roedores tales como ratones, ratas y cobayas, y similares. El término no denota una edad o un sexo particular. Por consiguiente, se pretende abarcar sujetos adultos y recién nacidos, así como fetos, sean machos o hembras.

El término “mamífero” según se usa en el presente documento se refiere a un organismo vivo capaz de provocar una respuesta inmune frente a un antígeno. El término incluye, pero no se limita a, primates no humanos tales como chimpancés y otros monos y especies de monos, ovejas, cerdos, cabras, caballos, gatos, ratones, ratas y cobayas, y similares.

La expresión “sales, ésteres, amidas y profármacos farmacéuticamente aceptables” según se usa en el presente documento se refiere a las sales de carboxilato, sales de adición de aminoácidos, ésteres, amidas y profármacos que son, dentro del alcance del criterio médico, adecuados para uso en contacto con los tejidos de los pacientes sin que

produzcan excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, y similar, proporcional con una relación beneficio/riesgo razonable, y eficaces para su uso proyectado de los compuestos de la invención. El término “sales” se refiere a las sales de adición de ácidos inorgánicos y orgánicos, relativamente no tóxicas, de los compuestos de la presente invención. Estas sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y purificación final de los compuestos o por reacción separada del compuesto purificado en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y aislamiento de la sal formada de tal manera. Éstas pueden incluir cationes basados en los metales alcalinos y alcalinotérreos, tales como sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares, así como cationes no tóxicos de amonio, amonio cuaternario y amina incluidos, pero no limitados a amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, etilamina, y similares. (Véase, por ejemplo, Berge S. M., y col., “Pharmaceutical Salts”, J. Pharm. Sci., 1977; 66:1-19).

El término “profármaco” se refiere a compuestos que se transforman rápidamente *in vivo* para dar el compuesto original de las fórmulas anteriores, por ejemplo, por hidrólisis en la sangre. Un extenso análisis se proporciona en T. Higuchi y V. Stella, “Pro-drugs as Novel Delivery Systems”, Vol. 14 de la A.C.S. Symposium Series, y en Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press, 1987. Según se usa en el presente documento, un profármaco es un compuesto que, tras la administración *in vivo*, se metaboliza o se convierte de otra manera en la forma biológica, farmacéutica o terapéuticamente activa del compuesto. Para producir un profármaco, el compuesto farmacéuticamente activo se modifica de manera que el compuesto activo se genere por medio de procesos metabólicos. El profármaco puede diseñarse para alterar la estabilidad metabólica o las características de transporte de un fármaco, para enmascarar los efectos secundarios o la toxicidad, para mejorar el sabor de un fármaco o para alterar otras características o propiedades de un fármaco. En virtud del conocimiento de los procesos farmacodinámicos y del metabolismo de los fármacos *in vivo*, una vez que se ha identificado un compuesto farmacéuticamente activo, los expertos en la técnica farmacéutica pueden por lo general diseñar profármacos del compuesto [véase, por ejemplo, Nogrady (1985) Medicinal Chemistry A Biochemical Approach, Oxford University Press, Nueva York, páginas 388-392]. Los procedimientos convencionales para la selección y preparación de derivados adecuados de profármacos se desvelan, por ejemplo, en “Design of Prodrugs”, ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985. Los ejemplos adecuados de profármacos incluyen metil, etil y glicerol ésteres de los ácidos correspondientes.

Los compuestos pueden formularse en composiciones farmacéuticas según lo descrito, *vide infra*. En una forma de realización de preferencia, el compuesto puede administrarse durante un período de tiempo prolongado en una composición de liberación prolongada. Las composiciones de liberación prolongada se conocen en la técnica y el experto en la técnica puede formular una composición aceptable en base a parámetros generalmente reconocidos en la técnica. En una forma de realización de mayor preferencia, puede utilizarse el éster de glicerol en el tratamiento de afecciones inflamatorias, descritas en el presente documento, en composiciones de liberación prolongada, es decir, un parche transdérmico, según se conoce en la técnica. Los procedimientos adecuados para preparar un parche transdérmico pueden encontrarse en las Patentes de EE.UU. N° 5.814.599, 5.846.974 ó 4.201.211. Más particularmente, los compuestos pueden administrarse por vía transdérmica usando los tipos de tecnologías de parches disponibles de Ciba-Geigy Corporation y Alza Corporation. La administración de las composiciones farmacéuticas de la presente invención puede ser intermitente, o a una velocidad gradual, continua, constante o controlada a un animal de sangre caliente, tal como un ser humano. Además, pueden variar la hora del día y el número de veces por día que se administra la formulación farmacéutica. La administración es de preferencia tal que los ingredientes activos de la formulación farmacéutica interactúan con la afección inflamatoria.

Una “cantidad terapéuticamente eficaz” es una cantidad de una ATL, tal como ATL-1 o una LXA₄, tal como 15-R/S-metil, LXA₄, suficiente para producir una inhibición o reducción medible o que previene la angiogénesis en el tejido tratado, es decir, una cantidad que inhibe la angiogénesis. La inhibición de la angiogénesis puede medirse *in situ* por inmunohistoquímico o por otros procedimientos conocidos por los expertos en la técnica tales como la medición por análisis FAC que controla los receptores de P-selectina o de VEGF. Véase también las Figuras 4 y 5.

Más específicamente, las composiciones farmacéuticas pueden incluir una “cantidad terapéuticamente eficaz” o una “cantidad profilácticamente eficaz” de un antiangiogénico de la invención. Una “cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a una cantidad eficaz, en dosificaciones y durante períodos de tiempo necesarios, para alcanzar el resultado terapéutico deseado, por ejemplo, una disminución, reducción o prevención de los factores angiogénicos asociados con diversos estados de enfermedad o afecciones. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un antiangiogénico puede variar según los factores tales como el estado de enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo, y la capacidad del angiogénico para provocar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad terapéuticamente eficaz es también una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial del anticuerpo o porción del anticuerpo es superado por los efectos terapéuticos beneficiosos.

Una “cantidad profilácticamente eficaz” se refiere a una cantidad eficaz, en dosificaciones y durante períodos de tiempo necesarios, para alcanzar el resultado profiláctico deseado, es decir, prevenir. Típicamente, como se usa una dosis profiláctica en sujetos antes o en una etapa previa a la enfermedad, la cantidad profilácticamente eficaz será menor que la cantidad terapéuticamente eficaz.

Las pautas de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta óptima deseada (por ejemplo, una respuesta terapéutica o profiláctica). Por ejemplo, puede administrarse un único bolo, pueden administrarse varias dosis divididas durante un período de tiempo o la dosis puede reducirse o aumentarse proporcionalmente según lo indiquen las exigencias de la situación terapéutica. Es especialmente ventajoso formular composiciones parenterales en la forma de monodosis para facilidad de administración y uniformidad de la dosificación. La forma de monodosis como se usa

en el presente documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para los sujetos mamíferos tratados; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada del compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación para la formas de monodosis de la invención está dictada por y depende directamente de (a) las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico o profiláctico particular a alcanzar, y (b) las limitaciones inherentes a la técnica de producción de un compuesto tan activo para el tratamiento de la sensibilidad en los individuos.

Un intervalo ejemplar, no limitante para una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un antiangiogénico de la invención es 0,1-20 mg/kg, de más preferencia 1-10 mg/kg. Debe notarse que los valores de dosificación pueden variar con el tipo y la gravedad de la afección a aliviar. Debe entenderse además que para cualquier sujeto particular, las pautas de dosificación específicas deben ajustarse con el tiempo según la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que los intervalos de dosificación establecidos en el presente documento son ilustrativos solamente y no pretenden limitar el alcance o la práctica de la composición reivindicada.

Los compuestos antiangiogénicos, por ejemplo, una ATL, tal como ATL-1 o una LXA₄, tal como 15-R/S-metil, LXA₄, pueden incorporarse en composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración a un sujeto. Típicamente, la composición farmacéutica comprende un antiangiogénico de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Según se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardadores de la absorción, y similares que sean fisiológicamente compatibles. Los ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen uno o más de agua, disolución salina, disolución salina tamponada de fosfato, dextrosa, glicerol, etanol y similares, así como sus combinaciones. En algunos casos, puede ser beneficioso incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol o cloruro de sodio en la composición. Los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden comprender además cantidades menores de sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o emulsivos, conservantes o tampones, que mejoran la caducidad o la eficacia del antiangiogénico.

Además, los alcoholes mono-, di- y/o tri-protectidos de los compuestos de la invención proporcionan liberación prolongada del compuesto inhibidor/preventivo. Por ejemplo, los análogos tri-acilo de la invención proporcionan tal liberación prolongada del(los) tri-hidroxi alcohol(es). Los análogos triacilados son por consiguiente desesterificados en la sangre del sujeto.

Los antiangiogénicos de la invención pueden incorporarse en una composición farmacéutica adecuada para administración parenteral. Otros tampones adecuados incluyen, pero no se limitan a, succinato de sodio, citrato de sodio, fosfato de sodio o fosfato de potasio. El cloruro de sodio puede usarse para modificar la toxicidad de la disolución en una concentración de 0-300 mM (de manera óptima 150 mM para una forma de dosificación líquida). Pueden incluirse crioprotectores para una forma de dosificación liofilizada, principalmente sacarosa al 0-10% (de manera óptima al 0,5-1,0%). Otros crioprotectores adecuados incluyen la trehalosa y la lactosa. Pueden incluirse agentes de carga para una forma de dosificación liofilizada, principalmente manitol al 1-10% (de manera óptima al 2-4%). Pueden usarse estabilizantes tanto en las formas de dosificación líquidas como en las liofilizadas, principalmente L-metionina 1-50 mM (de manera óptima 5-10 mM). Otros agentes de carga adecuados incluyen glicina, arginina, pueden incluirse como polisorbato-80 al 0-0,05% (de manera óptima al 0,005-0,01%). Otros tensioactivos incluyen, pero no se limitan a, polisorbato 20 y tensioactivos BRIJ.

Las composiciones pueden estar en una diversidad de formas. Éstas incluyen, por ejemplo, formas de dosificación líquidas, semisólidas y sólidas, tales como disoluciones líquidas (por ejemplo, disoluciones inyectables o para administrar por infusión), dispersiones o suspensiones, comprimidos, píldoras, polvos, liposomas y supositorios. La forma de preferencia depende del modo de administración proyectado y de la aplicación terapéutica. Las composiciones típicas de preferencia están en la forma de disoluciones inyectables o para administración por infusión, tales como las composiciones similares a las usadas para la inmunización pasiva de seres humanos. El modo de administración de preferencia es la vía parenteral (por ejemplo, intravenosa, subcutánea, intreperitoneal, intramuscular). En una forma de realización de preferencia, el antiangiogénico se administra por infusión o inyección intravenosa. En otra forma de realización de preferencia, el antiangiogénico se administra por inyección intramuscular o subcutánea. En la forma de realización de mayor preferencia, el antiangiogénico se administra por vía oral.

Como alternativa, una forma de realización de preferencia incluye el uso de los compuestos de la invención en disoluciones de gotas para ojos. Esto proporciona una aplicación para facilitar la inhibición o para prevenir enfermedades oculares tales como el glaucoma. Por lo general, el ingrediente activo, es decir, los compuestos, se disolverán en una disolución acuosa que puede aplicarse directamente al ojo.

Las composiciones terapéuticas típicamente deben ser estériles y estables bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición puede formularse como una disolución, microemulsión, dispersión, liposoma u otra estructura ordenada adecuada para una concentración elevada del fármaco. Pueden prepararse disoluciones inyectables estériles incorporando el compuesto activo (es decir, antígeno, anticuerpo o parte de anticuerpo) en la cantidad requerida en un disolvente adecuado con uno o una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguida por esterilización por filtrado.

Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles, liofilizados, para la preparación de disoluciones inyectables estériles, los procedimientos de preparación de preferencia son el secado en vacío y el secado por atomización que dan un polvo del ingrediente activo más cualquier otro ingrediente deseado de una disolución previamente filtrada estéril de los mismos. La adecuada fluidez de una disolución puede mantenerse, por ejemplo, por medio del uso de un recubrimiento tal como lecitina, por medio del mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de una dispersión y por medio del uso de tensioactivos. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede obtenerse incluyendo en la composición un agente que retarde la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

Los antiangiogénicos pueden administrarse por una diversidad de procedimientos conocidos en la técnica. Como apreciarán los expertos en la técnica, la vía y/o modo de administración variará dependiendo de los resultados deseados. En ciertas formas de realización, el compuesto activo puede prepararse con un vehículo que protegerá al compuesto contra la liberación rápida, tal como una formulación de liberación controlada, incluidos implantes, parches transdérmicos y sistemas microencapsulados de administración. Pueden usarse polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como vinil acetato de etileno, polianhídridos, ácido glicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Muchos procedimientos para la preparación de tales formulaciones están patentados o son conocidos en general por los expertos en la técnica. Véase, por ejemplo, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems, J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1978.

En ciertas formas de realización, puede administrarse un antiangiogénico por vía oral, por ejemplo, con un diluyente inerte o un vehículo comestible asimilable. El compuesto (y otros ingredientes, si se desea) puede también incluirse en una cápsula de gelatina dura o blanda, comprimirse en forma de comprimidos o incorporarse directamente en la dieta del sujeto. Para la administración terapéutica por vía oral, los compuestos pueden incorporarse con excipientes y usarse en la forma de comprimidos que pueden ingerirse, comprimidos bucales, pastillas, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas y similares. Para administrar un compuesto de la invención por otra vía diferente a la administración parenteral, puede ser necesario recubrir el compuesto con, o coadministrar el compuesto con, un material que evite su inactivación.

La presente invención también describe composiciones farmacéuticas envasadas útiles en la prevención o inhibición de la actividad angiogénica en un sujeto. La composición farmacéutica envasada incluye un envase que tiene una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos una ATL, tal como ATL-1 o una LXA₄, tal como 15-R/S-metil, LXA₄, o sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables, y las instrucciones para usar el compuesto terapéutico para prevenir, reducir o inhibir la actividad angiogénica en el sujeto. Además, la presente invención desvela cantidades terapéuticamente eficaces de composiciones farmacéuticas envasadas, por ejemplo, ATL-1, LXA₄, 15-epi-LXA₄ o 15-R/S-metil, LXA₄ o sus sales, ésteres, amidas o profármacos farmacéuticamente aceptables, y las instrucciones útiles para tratar, es decir, inhibir o prevenir, el crecimiento tisular de tumores sólidos y que sufran neovascularización, la presentación de neovascularización, la presentación de neovascularización en tejido de la retina, la presentación de reestenosis tras la angioplastia en un tejido en el que se produce migración de células de músculo liso, o reducir el suministro de sangre a un tejido necesario para soportar el nuevo crecimiento de tejido angiogénico.

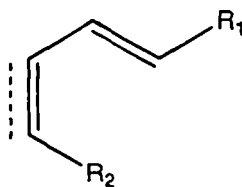
La presente invención también desvela compuestos angiogénicos que facilitan la angiogénesis. Sorprendentemente, los isómeros configuracionales de LXA₄, análogos de LXA₄ y análogos de ATL, LXB₄ y análogos de LXB₄ y sus sales farmacéuticamente aceptables, proporcionan los efectos opuestos con respecto a la revascularización de tejidos por los compuestos identificados anteriormente. Es decir, se ha descubierto sorprendentemente que LXB₄ y los análogos de LXB₄ tienen la capacidad de estimular la regeneración y el crecimiento de tejido vascular o epitelial en tejidos que necesitan tal estimulación. Esto es especialmente importante en los lugares de fijación de tejido de injertos, tejidos contruidos por ingeniería y grupos protésicos. Por consiguiente, los compuestos usados en la presente invención pueden usarse en procedimientos de regeneración tisular y en composiciones farmacéuticas envasadas para lograr tales resultados.

Por ejemplo, la enfermedad cardiovascular se presenta como consecuencia de un bloqueo parcial o completo de vasos que llevan sangre en el sistema vascular coronario y en la vasculatura periférica. La oclusión del vaso puede dar como resultado la muerte del tejido previamente nutrido por los vasos ocluidos o incapacidad de los vasos para transportar suficiente suministro de sangre a regiones que requieren un alto consumo de sangre y de nutrientes acompañantes. La oclusión de vasos sanguíneos puede compensarse parcialmente por el proceso natural de angiogénesis, en el que se forman nuevos conductos para reemplazar la función de los vasos dañados. Estos nuevos conductos se denominan vasos "colaterales" y pueden ayudar a restaurar el flujo sanguíneo al tejido privado, constituyendo por consiguiente desvíos naturales alrededor de los vasos ocluidos. Sin embargo, por diversas razones algunos individuos no son capaces de generar suficientes vasos colaterales para gestionar las consecuencias del flujo de sangre disminuido de la enfermedad cardiovascular.

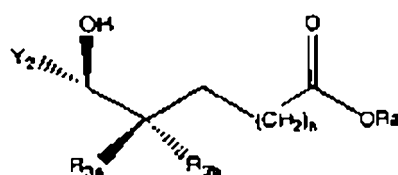
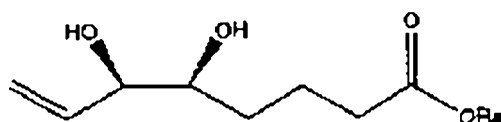
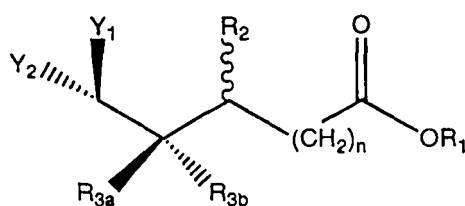
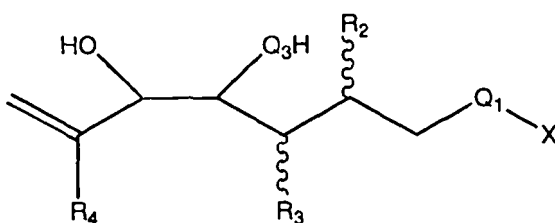
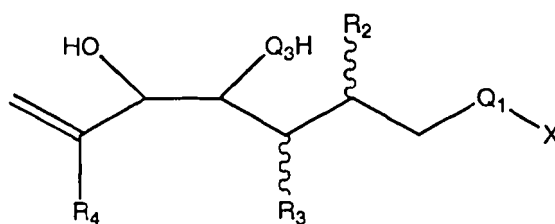
Los compuestos de LXB₄ desvelados en el presente documento pueden usarse para mejorar la capacidad natural del cuerpo de repararse a sí mismo por medio de la angiogénesis natural. Como puede observarse a partir del contenido de la memoria descriptiva y de las Figuras, el crecimiento de los vasos es estimulado por estos compuestos únicos. Este proceso y el uso de los presentes compuestos pueden utilizarse para el tratamiento de heridas. Los compuestos de LXB₄ ayudan a estimular el proceso de curación, causando la presentación de reepitelialización y vascularización.

Los análogos de lipoxina adecuados, incluidas las ATL, LXA₄ y LXB₄ incluyen aquellos que tienen las siguientes características.

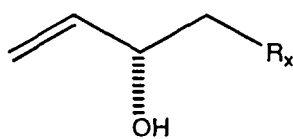
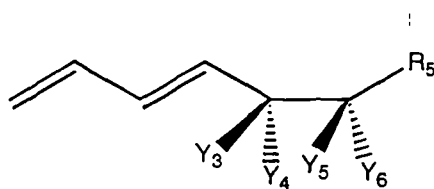
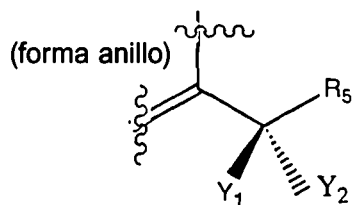
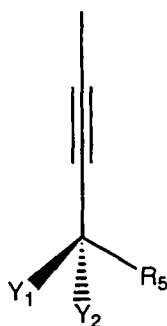
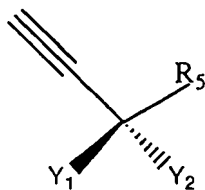
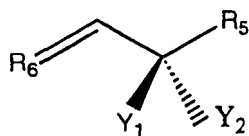
Las presentes lipoxinas que comprenden una “región activa” y una “región de transformación metabólica” según se definen ambos términos en el presente documento son por lo general de la siguiente estructura:

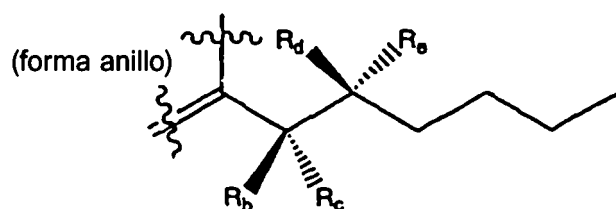
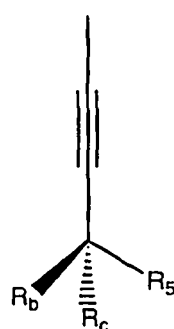
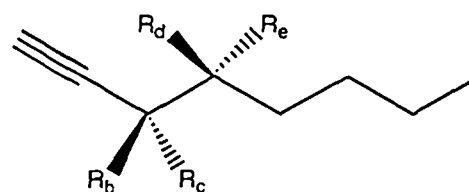
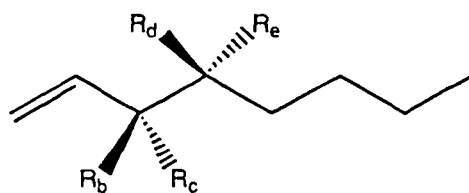


en la que R₁ puede ser

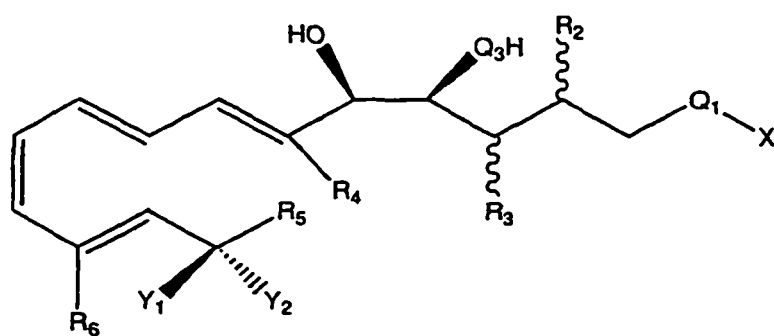


y R_2 puede ser





Los análogos de lipoxina descritos en el presente documento pueden tener la siguiente fórmula estructural I:



en la que X es R_1 , OR_1 , o SR_1 ;

en los que R_1 es

(i) un átomo de hidrógeno;

(ii) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

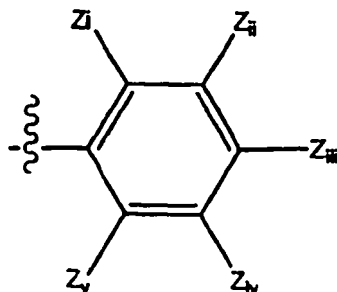
(iii) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, inclusive;

ES 2 344 814 T3

(iv) un aralkilo de 7 a 12 átomos de carbono;

(v) fenilo;

(vi) fenilo sustituido



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-\text{OR}_x$, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

(vii) una molécula marcadora detectable; o

(viii) un alqueno de cadena de lineal o ramificada, de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive;

en la que Q_1 es $(\text{C}=\text{O})$, SO_2 o (CN) ;

en la que Q_3 es O, S o NH;

en la que uno de R_2 y R_3 es un átomo de hidrógeno y el otro es

(a) un átomo de hidrógeno;

(b) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

(c) un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, inclusive;

(d) un alqueno de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada; o

(e) $\text{R}_a \text{Q}_2 \text{R}_b$

en el que Q_2 es $-\text{O}-$ o $-\text{S}-$;

en el que R_a es alqueno de 0 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada; y en el que R_b es alquilo de 0 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en la que R_4 es

(a) un átomo de hidrógeno;

(b) un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en la que Y_1 o Y_2 es $-\text{OH}$, metilo, o $-\text{SH}$ y en la que el otro es

(a) un átomo de hidrógeno

(b) CH_aZ_b

donde $a+b=3$, $a=0$ hasta 3, $b=0$ hasta 3; y

cada Z , independientemente, es un ciano, un nitro, o un átomo de halógeno;

(c) un alquilo de 2 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada; o

(d) un alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono, inclusive;

ES 2 344 814 T3

o Y_1 e Y_2 tomados juntos son

(a) $=NH$; o

(b) $=O$;

en la que R_5 es

(a) un alquilo de 1 a 9 átomos de carbono que puede ser de cadena lineal o ramificada;

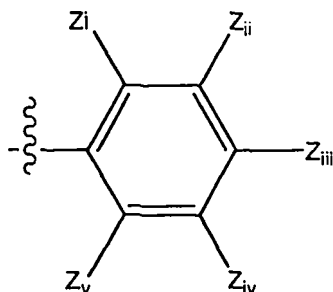
(b) $-(CH_2)_n-R_i$

en el que $n=0$ hasta 4 y R_i es

(i) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, inclusive;

(ii) un fenilo; o

(iii) fenilo sustituido



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-OR_x$, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

(c) $R_a Q_a R_b$

en el que Q_a es O o S;

en el que R_a es alquilenos de 0 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en el que R_b es alquilo de 0 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

(d) $-C(R_{iii})(R_{iv})-R_i$

en el que R_{iii} y R_{iv} son cada uno, independientemente:

(i) un átomo de hidrógeno;

(ii) $CH_a Z_b$ donde $a+b=3$, $a=0$ hasta 3, $b=0+3$, y en la que cada Z , es independientemente, un ciano, un nitro, o un átomo de halógeno;

(e) un haloalquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, y 1 a 6 átomos de halógenos, inclusive, de cadena lineal o ramificada; y

en la que R_6 es

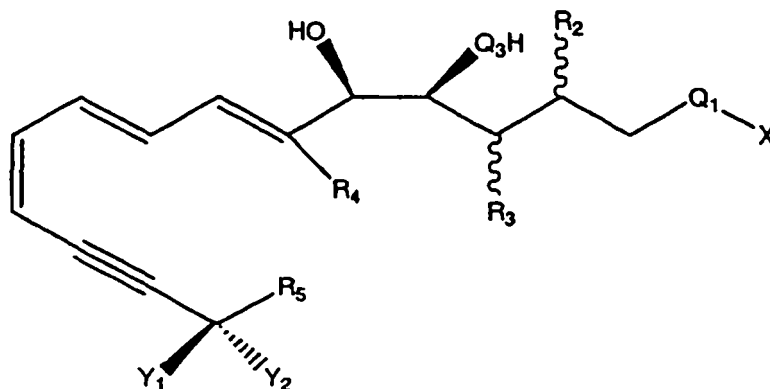
(a) un átomo de hidrógeno;

(b) un alquilo de 1 hasta 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

(c) un halógeno.

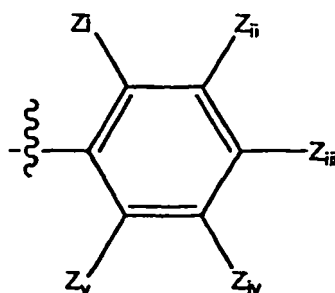
ES 2 344 814 T3

Los análogos de lipoxina descritos en el presente documento pueden tener la siguiente estructura II:



en la que X es R_1 , OR_1 , o SR_1 ; en los que R_1 es

- (i) un átomo de hidrógeno;
- (ii) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;
- (iii) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, inclusive;
- (iv) un aralquilo de 7 a 12 átomos de carbono;
- (v) un fenilo;
- (vi) fenilo sustituido



en la que Z_I , Z_{II} , Z_{III} , Z_{IV} y Z_V se seleccionan cada uno independientemente de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-OR_x$,

en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

- (vii) una molécula marcadora detectable, tal como pero no limitada a marcadores fluorescentes; o
- (viii) una cadena de alqueno de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive, lineal o ramificada;

en la que Q_1 es $(C=O)$, SO_2 o $(C=N)$;

en la que Q_3 es O, S o NH;

en la que uno de R_2 y R_3 es hidrógeno y el otro es

- (a) un átomo de hidrógeno;
- (b) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

ES 2 344 814 T3

(c) un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, inclusive;

(d) un alqueno de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada; o

(e) $R_a Q_2 R_b$

en el que Q_2 es -O- o -S-;

en el que R_a es alqueno de 0 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en el que R_b es alquilo de 0 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en la que R_4 es

(a) un átomo de hidrógeno;

(b) alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en la que Y_1 o Y_2 es -OH, metilo, -H o -SH y en la que la otra es

(a) un átomo de hidrógeno;

(b) $CH_a Z_b$

en la que $a+b=3$, $a=0$ hasta 3, $b=0$ hasta 3

en la que cada Z es independientemente, un ciano, un nitro, o un átomo de halógeno;

(c) un alquilo de 2 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

(d) un alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono, inclusive; o Y_1 e Y_2 tomados juntas son

(a) =NH; o

(b) =O;

en la que R_5 es

(a) un alquilo de 1 a 9 átomos de carbono que puede ser de cadena lineal o ramificada;

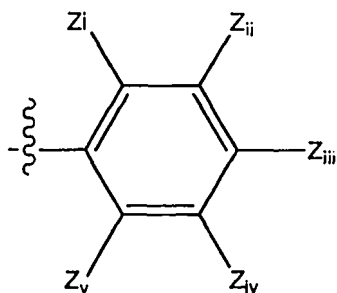
(b) $-(CH_2)_n - R_i$

en el que $n=0$ hasta 4 y R_i es

(i) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, inclusive;

(ii) fenilo; o

(iii) fenilo sustituido



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-OR_x$, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

(c) $-R_aQ_aR_b$

en el que Q_a es $-O-$ o $-S-$; y

en el que R_a es alquileo de 0 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en el que R_b es alquilo de 0 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

(d) $-C(R_{iii})(R_{iv})-R_i$

en el que R_{iii} y R_{iv} son cada uno independientemente:

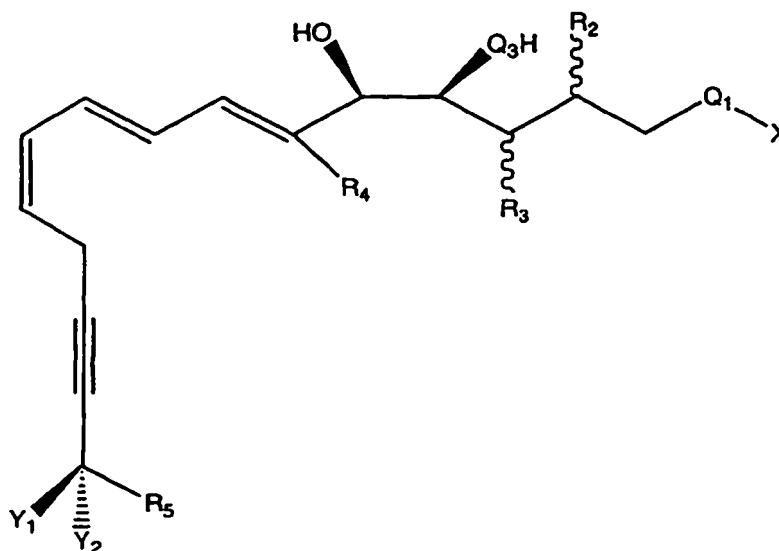
(i) un átomo de hidrógeno; o

(ii) CH_aZ_b donde $a+b=3$, $a=0$ hasta 3, $b=0+3$,

en el que cada Z es independientemente, un ciano, un nitro, o un átomo de halógeno;

(e) un haloalquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, y 1 a 6 átomos de halógenos, inclusive, de cadena lineal o ramificada.

Los análogos de lipoxina descritos en el presente documento pueden tener la siguiente estructura III:



en la que X es R_1 , OR_1 , o SR_1 ; en el que R_1 es

(i) un átomo de hidrógeno;

(ii) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

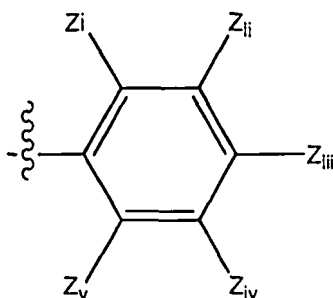
(iii) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, inclusive;

(iv) un aralquilo de 7 a 12 átomos de carbono;

(v) fenilo;

(vi) fenilo sustituido

ES 2 344 814 T3



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-\text{OR}_x$,

en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

(vii) una molécula marcadora detectable; o

(viii) un alqueno de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

en la que Q_1 es $(\text{C}=\text{O})$, SO_2 o $(\text{C}=\text{N})$;

en la que Q_3 es O, S o NH;

en la que uno de R_2 y R_3 es un átomo de hidrógeno y el otro es

(a) un átomo de hidrógeno;

(b) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

(c) un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, inclusive;

(d) un alqueno de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada; o

(e) $\text{R}_a\text{Q}_2\text{R}_b$

en el que Q_2 es $-\text{O}-$ o $-\text{S}-$;

en el que R_a es alqueno de 0 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en el que R_b es alquilo de 0 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en la que R_4 es

(a) un átomo de hidrógeno; o

(b) un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en la que Y_1 o Y_2 es hidroxilo, metilo, hidrógeno o tiol y

en la que el otro es

(a) un átomo de hidrógeno;

(b) CH_aZ_b

donde $a+b=3$, a de 0 hasta 3, b=0 hasta 3

en el que cada Z es independientemente, un ciano, un nitro, o un átomo de halógeno;

(c) un alquilo de 2 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

(d) un alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono, inclusive; o Y_1 e Y_2 tomados en conjunto son

(a) $=\text{NH}$; o

ES 2 344 814 T3

(b) =O; y

en la que R_5 es

(a) un alquilo de 1 a 9 átomos de carbono que puede ser de cadena lineal o ramificada;

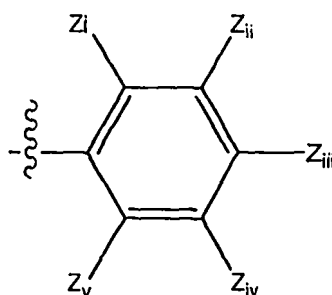
(b) $-(CH_2)_n-R_i$

en el que $n=0$ hasta 4 y R_i es

(i) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, inclusive;

(ii) fenilo;

(iii) fenilo sustituido



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-OR_x$,

en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

(c) $R_a Q_a R_b$

en el que Q_a es $-O-$ o $-S-$;

en el que R_a es alquileo de 0 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en el que R_b es alquilo de 0 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada; o

(d) $-C(R_{iii})(R_{iv})-R_i$

en el que R_{iii} y R_{iv} son cada uno independientemente:

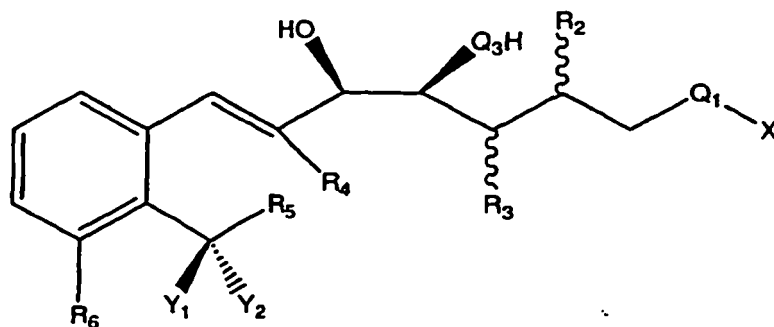
(i) un átomo de hidrógeno; o

(ii) $CH_a Z_b$ donde $a+b=3$, $a=0$ hasta 3, $b=0+3$

en el que cada Z es independientemente, un ciano, un nitro, o un átomo de halógeno,

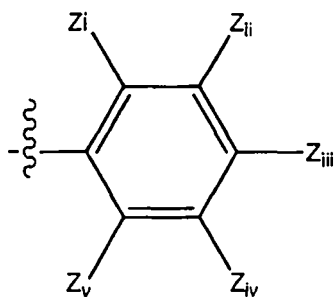
(e) un haloalquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, y 1 a 6 átomos de halógenos, inclusive, de cadena lineal o ramificada.

Los análogos de lipoxina descritos en el presente documento pueden tener la siguiente fórmula estructural IV:



en la que X es R₁, OR₁, o SR₁; en los que R₁ es

- (i) un átomo de hidrógeno;
- (ii) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;
- (iii) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, inclusive;
- (iv) un aralquilo de 7 a 12 átomos de carbono;
- (v) fenilo;
- (vi) fenilo sustituido



en el que Z_i, Z_{ii}, Z_{iii}, Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de -NO₂, -CN, -C(=O)-R₁, -SO₃H, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, -OR_x,

en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

(vii) una molécula marcadora detectable; o

(viii) un alquenilo de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

en la que Q₁ es (C=O), SO₂ o (CN);

en la que Q₃ es O, S o NH;

en la que uno de R₂ y R₃ es un átomo de hidrógeno y el otro es

(a) un átomo de hidrógeno;

(b) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

(c) un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, inclusive;

ES 2 344 814 T3

(d) un alqueniilo de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada; o

(e) $R_a Q_2 R_b$

en el que Q_2 es -O- o -S-;

en el que R_a es alquileo de 0 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en el que R_b es alquilo de 0 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en la que R_4 es

(a) un átomo de hidrógeno; o

(b) un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en la que Y_1 o Y_2 es -OH, metilo o -SH y en la que el otro es

(a) un átomo de hidrógeno

(b) $CH_a Z_b$ donde $a+b=3$, $a=0$ hasta 3, $b=0$ hasta 3, en el que cada Z es independientemente, un ciano, un nitro, o un átomo de halógeno;

(c) un alquilo de 2 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada; o

(d) un alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono, inclusive;

o Y_1 e Y_2 tomados en conjunto son

(a) =NH; o

(b) =O;

en la que R_5 es

(a) un alquilo de 1 a 9 átomos de carbono que puede ser de cadena lineal o ramificada;

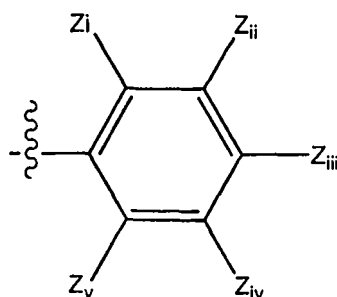
(b) $-(CH_2)_n-R_i$

en el que $n=0$ hasta 4 y R_i es

(i) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, inclusive;

(ii) fenilo; o

(iii) fenilo sustituido



en el que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-OR_x$,

en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

(c) $R_a Q_a R_b$

ES 2 344 814 T3

en el que Q_a es -O- o -S-;

en el que R_a es alquileo de 0 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en el que R_b es alquilo de 0 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

(d) $-C(R_{iii})(R_{iv})-R_i$

en el que R_{iii} y R_{iv} son cada uno independientemente:

(i) un átomo de hidrógeno; o

(ii) CH_aZ_b donde $a+b=3$, $a=0$ hasta 3, $b=0+3$ y

en el que cada Z es independientemente, un ciano, un nitro, o un átomo de halógeno, o

(e) haloalquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, y de 1 a 6 átomos de halógeno, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

y

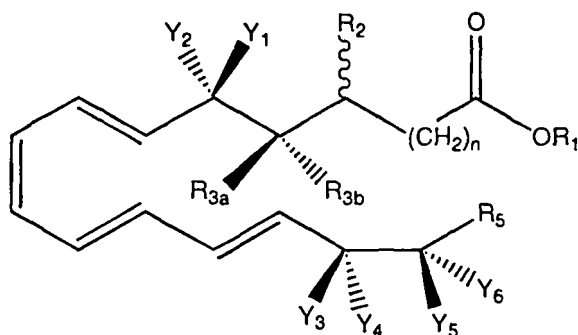
en la que R_6 es

(a) un átomo de hidrógeno;

(b) un alquilo de 1 hasta 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada; o

(c) un átomo de halógeno.

Los análogos de lipoxina descritos en el presente documento pueden tener la siguiente fórmula estructural V:



en la que R_1 es

(i) un átomo de hidrógeno;

(ii) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

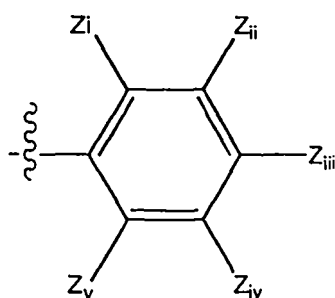
(iii) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, inclusive;

(iv) un aralquilo de 7 a 12 átomos de carbono;

(v) fenilo;

(vi) fenilo sustituido

ES 2 344 814 T3



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-\text{OR}_x$,

en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

(vii) una molécula marcadora detectable; o

(viii) un alqueno de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

en el que $n = 1$ hasta 10, inclusive;

en la que R_2 , R_{3a} , y R_{3b} son cada uno independientemente:

(a) un átomo de hidrógeno;

(b) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

(c) un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, inclusive;

(d) un alqueno de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada; o

(e) $\text{R}_a\text{Q}_2\text{R}_b$

en el que Q_2 es $-\text{O}-$ o $-\text{S}-$;

en el que R_a es alqueno de 0 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada; y en el que R_b es alquilo de 0 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en la que Y_1 o Y_2 es $-\text{OH}$, metilo, hidrógeno, o $-\text{SH}$ y

en la que la otra es

(a) un átomo de hidrógeno;

(b) CH_aZ_b

en la que $a+b=3$, $a=0$ hasta 3, $b=0$ hasta 3, y

en el que cada Z es independientemente, un ciano, un nitro, o un átomo de halógeno;

(c) un alquilo de 2 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

(d) un alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

o Y_1 e Y_2 tomados en conjunto son

(a) $=\text{NH}$; o

(b) $=\text{O}$;

en la que Y_3 o Y_4 es $-\text{OH}$, metilo, hidrógeno, o $-\text{SH}$ y

en la que la otra es

(a) un átomo de hidrógeno;

ES 2 344 814 T3

(b) CH_aZ_b

en la que $a+b=3$, $a=0$ hasta 3, $b=0$ hasta 3,

en el que cada Z es independientemente, un ciano, un nitro, o un átomo de halógeno;

(c) un alquilo de 2 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

(d) un alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

o Y_3 e Y_4 tomados en conjunto son

(a) $=\text{NH}$; o

(b) $=\text{O}$;

en la que Y_5 o Y_6 es $-\text{OH}$, metilo, hidrógeno, o $-\text{SH}$ y

en la que la otra es

(a) un átomo de hidrógeno

(b) CH_aZ_b

en la que $a+b=3$, $a=0$ hasta 3, $b=0$ hasta 3

en el que cada Z es independientemente, un ciano, un nitro, o un átomo de halógeno;

(c) un alquilo de 2 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

(d) un alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

o Y_5 e Y_6 tomados en conjunto son

(a) $=\text{NH}$; o

(b) $=\text{O}$;

en la que R_5 es

(a) un alquilo de 1 a 9 átomos de carbono que puede ser de cadena lineal o ramificada;

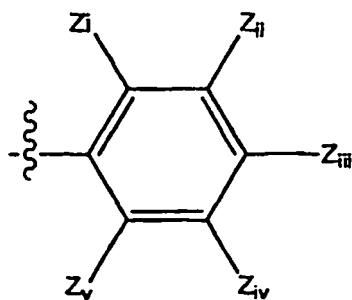
(b) $-(\text{CH}_2)_n-\text{R}_i$

en el que $n = 0$ hasta 4 y R_i es

(i) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, inclusive;

(ii) fenilo; o

(iii) fenilo sustituido



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-\text{OR}_x$,

ES 2 344 814 T3

en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

(c) $-R_a Q_a R_b$

en el que Q_a es -O- o -S-; y

en el que R_a es alquileo de 0 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en el que R_b es alquilo de 0 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada o fenilo sustituido;

(d) $-C(R_{iii})(R_{iv})-R_i$

en el que R_{iii} y R_{iv} son cada uno independientemente:

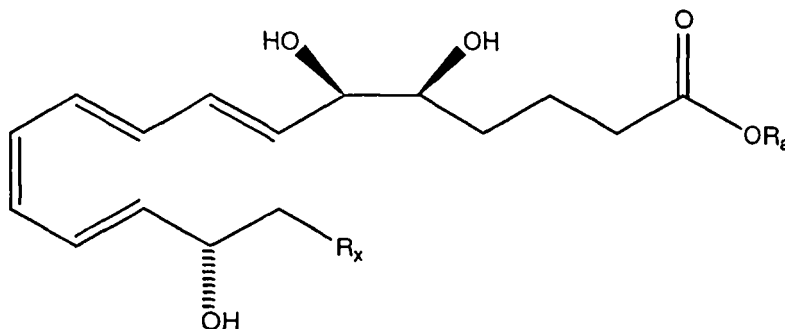
(i) un átomo de hidrógeno; o

(ii) $CH_a Z_b$ donde $a+b=3$, $a=0$ hasta 3, $b=0+3$, y

en la que cada Z es independientemente, un ciano, un nitro, o un átomo de halógeno; o

(e) haloalquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, y 1 a 6 átomos de halógenos, inclusive, de cadena lineal o ramificada.

Los análogos de lipoxina descritos en el presente documento pueden tener la siguiente fórmula estructural VI:



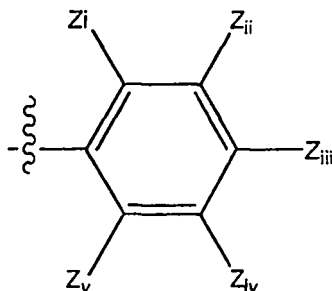
en la que R_a es

(a) un átomo de hidrógeno; o

(b) alquilo de 1 a 8 átomos de carbono;

en la que R_x es

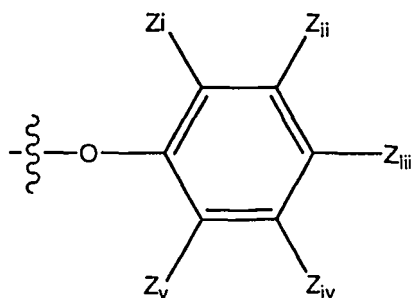
(a) fenilo sustituido



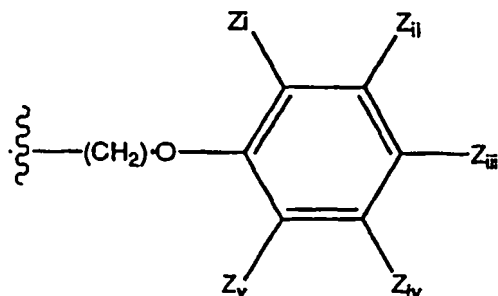
en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-OR_x$,

en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

(b) un fenoxi sustituido

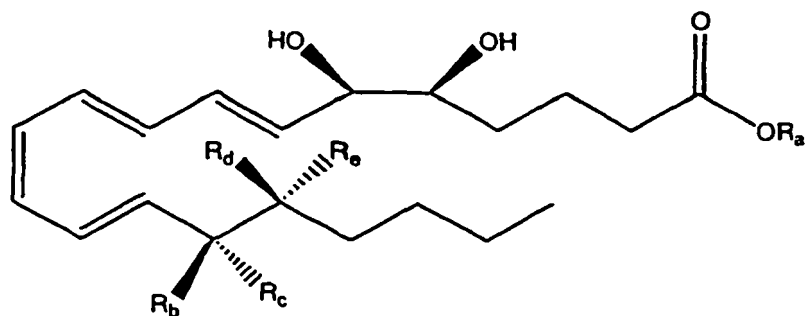


en la que Z_i hasta Z_v son como se definieron anteriormente; o



en la que Z_i hasta Z_v son como se definieron anteriormente.

Los análogos de lipoxina descritos en el presente documento pueden tener la siguiente fórmula estructural VII:



en la que R_a es

(a) un átomo de hidrógeno; o

(b) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono;

en la que R_b y R_c son cada uno independientemente:

(a) un átomo de hidrógeno;

(b) un hidroxilo, o un tiol;

(c) un metilo o un halometilo;

(d) un halógeno;

(e) un alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono;

en la que R_d y R_e son cada uno independientemente:

(a) un átomo de hidrógeno;

(b) un hidroxilo, o tiol;

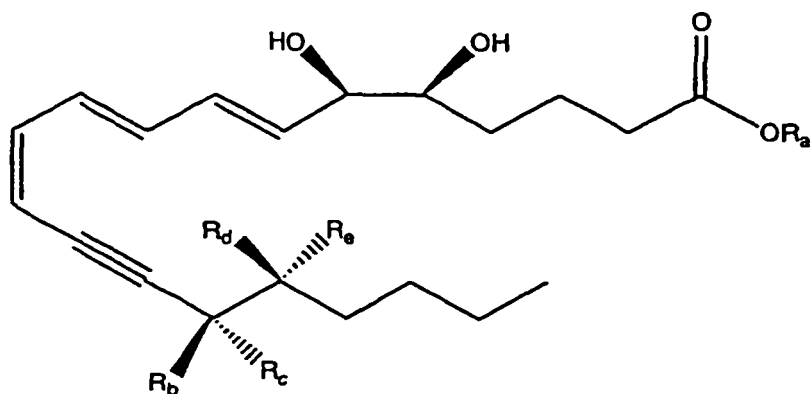
(c) un metilo o halometilo;

(d) un halógeno;

(e) un alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono; o

(f) un alquilo o haloalquilo de 2 a 4 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada.

Los análogos de lipoxina descritos en el presente documento pueden tener la siguiente fórmula estructural VIII:



en la que R_a es

(a) un átomo de hidrógeno; o

(b) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono;

en la que R_b y R_c son cada uno independientemente:

(a) un átomo de hidrógeno;

(b) un hidroxilo, o un tiol;

(c) un halometilo;

(d) un halógeno;

(e) un alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada; o

(f) un alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono, inclusive;

en la que R_d y R_e son cada uno independientemente:

(a) un átomo de hidrógeno;

(b) un hidroxilo, o un tiol;

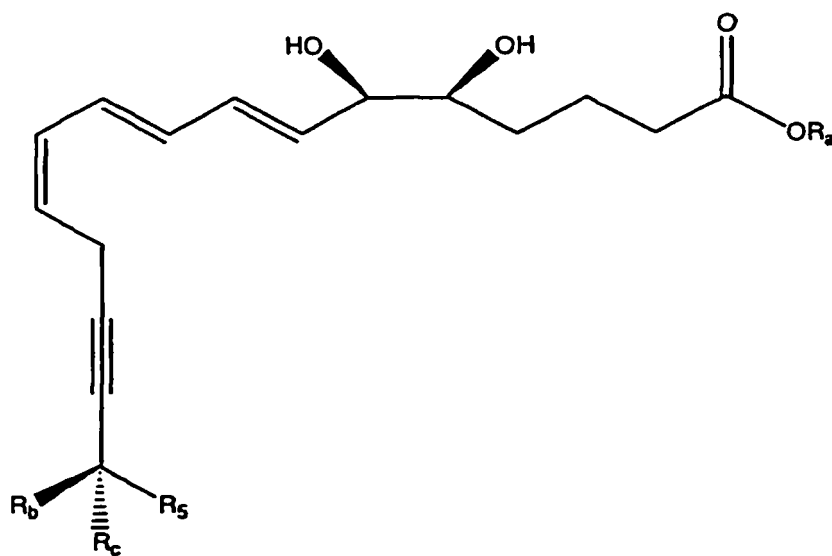
(c) un metilo o un halometilo;

(d) un halógeno;

(e) un alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono, inclusive; o

(f) un alquilo o haloalquilo de 2 a 4 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada.

Los análogos de lipoxina descritos en el presente documento pueden tener la siguiente fórmula estructural IX:



en la que R_a es

(a) un átomo de hidrógeno; o

(b) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono;

en el que R_b y R_c son cada uno independientemente:

(a) un átomo de hidrógeno;

(b) un hidroxilo, o tiol;

(c) un halometilo;

(d) un halógeno;

(e) un alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

(f) un alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono, inclusive; y

en la que R_5 es

(a) un alquilo de 1 a 9 átomos de carbono que puede ser de cadena lineal o ramificada;

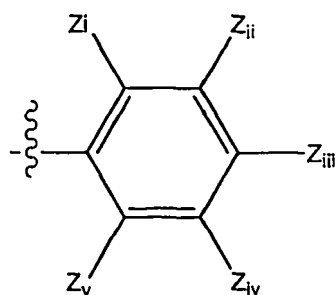
(b) $-(CH_2)_n-R_i$

en el que $n = 0$ hasta 4 y R_i es

(i) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, inclusive;

(ii) fenilo; o

(iii) fenilo sustituido



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-\text{OR}_x$,

en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

(c) $\text{R}_a\text{Q}_a\text{R}_b$

en el que Q_a es $-\text{O}-$ o $-\text{S}-$;

en el que R_a es alquileo de 0 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en el que R_b es alquilo de 0 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada o fenilo sustituido;

(d) $-\text{C}(\text{R}_{iii})(\text{R}_{iv})-\text{R}_i$

en el que R_{iii} y R_{iv} son cada uno, independientemente:

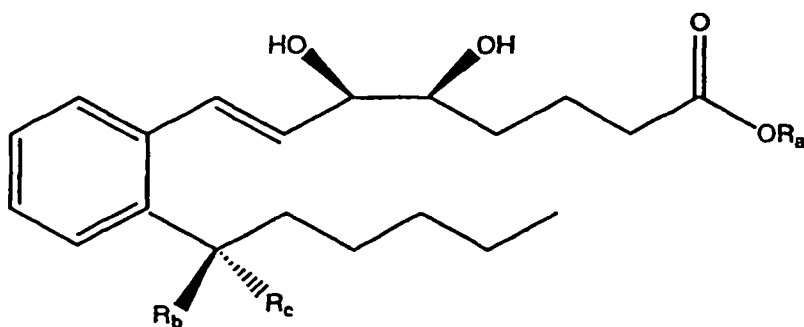
(i) un átomo de hidrógeno; o

(ii) CH_aZ_b donde $a+b=3$, $a=0$ hasta 3, $b=0+3$

en la que cada Z es independientemente, un ciano, un nitro, o un átomo halógeno; o

(e) haloalquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, y 1 a 6 átomos halógenos, inclusive, de cadena lineal o ramificada.

Los compuestos descritos en el presente documento pueden tener la fórmula estructural X:



en la que R_a es

(a) un átomo de hidrógeno; o

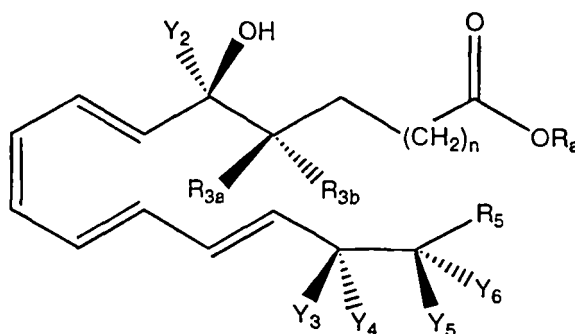
(b) alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada; y

en la que R_b y R_c son cada uno, independientemente:

ES 2 344 814 T3

- (a) un átomo de hidrógeno;
- (b) un hidroxilo, o un tiol;
- (c) un halometilo;
- (d) un halógeno;
- (e) un alquilo de 1 a 3 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;
- (f) un alcoxi de 1 a 3 átomos de carbono, inclusive;

Los compuestos descritos en el presente documento pueden tener la fórmula estructural XI:



en la que R_a es

- (i) un átomo de hidrógeno;
- (ii) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada; o
- (iii) una molécula marcadora detectable;

en la que $n=1$ hasta 10, inclusive;

en la que Y_2 , R_{3a} , y R_{3b} son cada uno, independientemente:

- (a) un átomo de hidrógeno;
- (b) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;
- (c) un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, inclusive;
- (d) un alqueno de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada; o
- (e) $R_a Q_2 R_b$

en el que Q_2 es -O- o -S-;

en el que R_a es alqueno de 0 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada; y en el que R_b es alquilo de 0 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en la que Y_1 es -OH, metilo, o -SH;

en la que Y_2 es

- (a) un átomo de hidrógeno

- (b) $CH_a Z_b$

en la que $a+b=3$, $a=0$ hasta 3, $b=0$ hasta 3

ES 2 344 814 T3

en el que cada Z es independientemente, un ciano, un nitro, o un átomo de halógeno; o

(c) un alquilo de 2 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

en la que Y_3 e Y_5 son cada uno independientemente:

(a) un átomo de hidrógeno

(b) CH_aZ_b

en la que $a+b=3$, $a=0$ hasta 3, $b=0$ hasta 3 y en el que cada Z es independientemente, un ciano, un nitro, o un átomo de halógeno; o

(c) un alquilo de 2 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

en la que Y_4 e Y_6 son cada uno independientemente:

(a) un átomo de hidrógeno

(b) un alquilo de 2 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

(c) un alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada; o

(d) un hidroxilo o tiol; y

en la que R_5 es

(a) un alquilo de 1 a 9 átomos de carbono que puede ser de cadena lineal o ramificada;

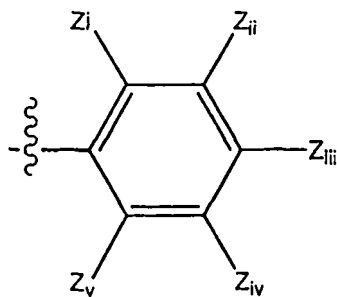
(b) $-(CH_2)_n-R_i$

en la que $n=0$ hasta 3 y R_i es

(i) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono, inclusive;

(ii) fenilo;

(iii) fenilo sustituido



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-OR_x$,

en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e

hidroxilo;

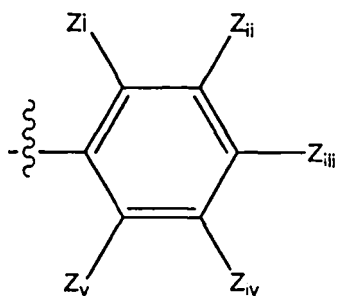
(c) $-R_aQ_aR_b$

en el que Q_a es $-O-$ o $-S-$;

en el que R_a es alquileo de 0 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en el que R_b es

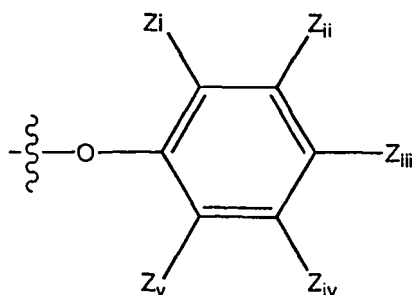
(a) un fenilo sustituido



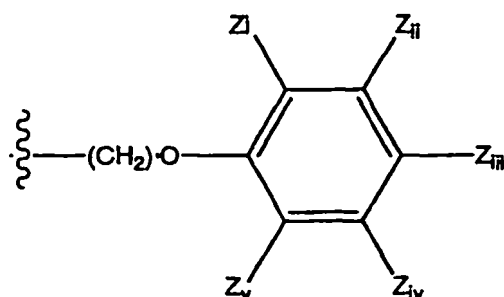
en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-\text{OR}_x$,

en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

(b) un fenoxi sustituido



en la que Z_i hasta Z_v son como se definieron anteriormente; o



en la que Z_i hasta Z_v son como se definieron anteriormente;

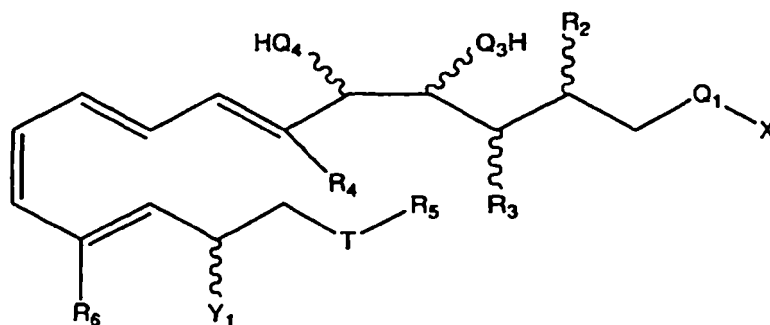
(d) un haloalquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, y de 1 a 6 átomos de halógeno, inclusive, de cadena lineal o ramificada.

Debe entenderse que los ácidos carboxílicos y ésteres usados en la invención pueden convertirse, si es necesario, en sales farmacéuticamente aceptables.

En ciertas formas de realización de la invención, pueden excluirse LXB_4 o los alcanosatos C5 y C14 y C15 (acetatos) de LXB_4 .

Lipoxinas que tienen sustituyentes fenoxi o tiofenoxi

Las lipoxinas y análogos de lipoxinas descritos en el presente documento y útiles como agentes terapéuticos en el tratamiento de enfermedades, estados de enfermedad o afecciones descritas a lo largo de la memoria descriptiva tienen la fórmula:



en la que X es R_1 , OR_1 , o SR_1 ;

en los que R_1 es

(i) un átomo de hidrógeno;

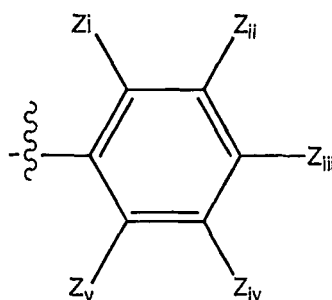
(ii) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

(iii) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono;

(iv) un aralquilo de 7 a 12 átomos de carbono;

(v) fenilo;

(vi) fenilo sustituido



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-OR_x$, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada,

e hidroxilo;

(vii) una molécula marcadora detectable; o

(viii) un alquenilo de cadena lineal o ramificada de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive;

en la que Q_1 es $(C=O)$, SO_2 o (CN) , a condición de que cuando Q_1 es CN , entonces X está ausente;

ES 2 344 814 T3

en la que Q_3 y Q_4 son cada uno independientemente O, S o NH;

en la que uno de R_2 y R_3 es un átomo de hidrógeno y el otro es

(a) H;

(b) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

(c) un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, inclusive;

(d) un alqueno de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada; o

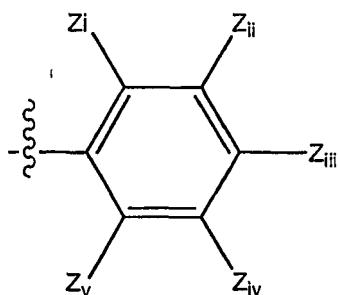
(e) $R_a Q_2 R_b$ en el que Q_2 es -O- o -S-; en el que R_a es alqueno de 0 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada y en la que R_b es alquilo de 0 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada, a condición de que cuando R_b es 0, entonces R_b es un átomo de hidrógeno;

en la que R_4 es

(a) H;

(b) un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en la que R_5 es



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-OR_x$, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo o un grupo alquilo sustituido o no sustituido, ramificado o no ramificado;

en la que Y_1 , es OH, metilo, $-SH$, un alquilo de 2 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada, un alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono, inclusive o $CH_a Z_b$ donde $a+b=3$, $a=0$ hasta 3, $b=0$ hasta 3 y Z es un ciano, nitro, o un halógeno;

en la que R_6 es

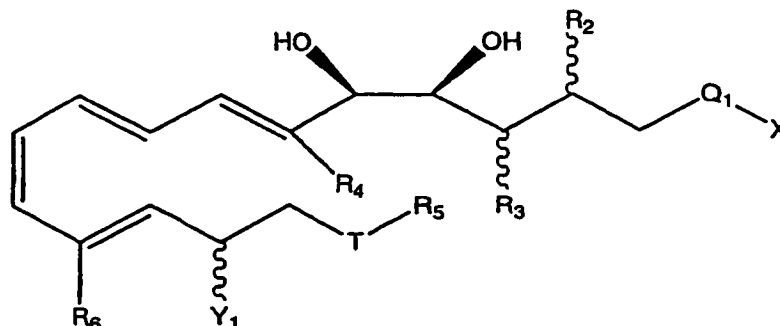
(a) H;

(b) un alquilo de 1 hasta 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

en la que T es O o S, y sus sales farmacéuticamente aceptables.

ES 2 344 814 T3

Las lipoxinas y análogos de lipoxinas descritos en el presente documento y útiles como agentes terapéuticos en el tratamiento de enfermedades, estados de enfermedad o afecciones descritas a lo largo de la memoria descriptiva tienen la fórmula:



en la que X es R_1 , OR_1 , o SR_1 ;

en los que R_1 es

(i) un átomo de hidrógeno;

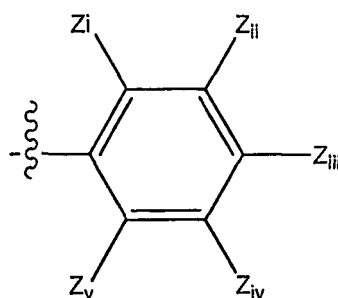
(ii) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

(iii) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono;

(iv) un aralquilo de 7 a 12 átomos de carbono;

(v) fenilo;

(vi) fenilo sustituido



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-OR_x$, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada,

e hidroxilo;

(vii) una molécula marcadora detectable; o

(viii) un alqueno de cadena lineal o ramificada de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive;

en la que Q_1 es $(C=O)$, SO_2 o (CN) , a condición de que cuando Q_1 es CN , entonces X está ausente;

en la que uno de R_2 y R_3 es un átomo de hidrógeno y el otro es

(a) H;

(b) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

ES 2 344 814 T3

(c) un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, inclusive;

(d) un alqueno de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada; o

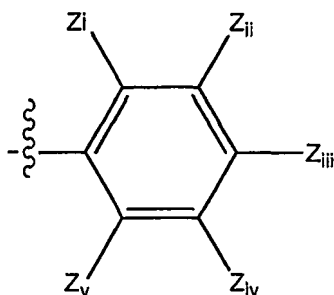
5 (e) $R_a Q_2 R_b$ en el que Q_2 es -O- o -S-; en el que R_a es alqueno de 0 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada y en la que R_b es alquilo de 0 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada, a condición de que cuando R_b es 0, entonces R_b es un átomo de hidrógeno;

en la que R_4 es

10 (a) H;

(b) un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

15 en la que R_5 es



20 en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de -NO₂, -CN, -C(=O)-R₁, -SO₃H, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, -OR_x, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo o un grupo alquilo sustituido o no sustituido, ramificado o no ramificado;

35 en la que Y_1 es -OH, metilo, -SH, un alquilo de 2 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada, un alcoxi de 1 a 4 átomos de carbono, inclusive, o CH₃Z_b donde a+b=3, a=0 hasta 3, b=0 hasta 3 y Z es ciano, nitro, o un halógeno;

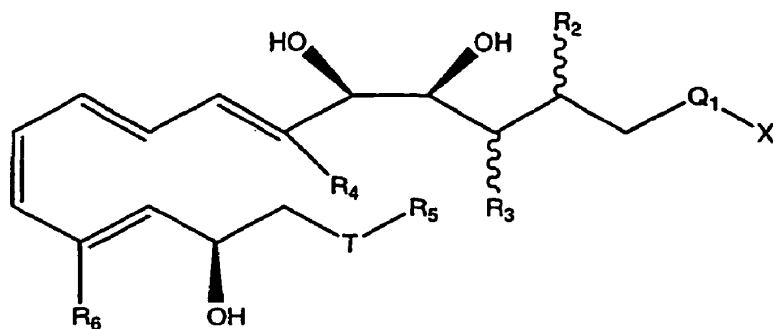
en la que R_6 es

40 (a) H;

(b) un alquilo de 1 hasta 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

45 en la que T es O o S, y sus sales farmacéuticamente aceptables.

Las lipoxinas y análogos de lipoxinas descritos en el presente documento y útiles como agentes terapéuticos en el tratamiento de enfermedades, estados de enfermedad o afecciones descritas a lo largo de la memoria descriptiva tienen la fórmula:



65 en la que X es R₁, OR₁, o SR₁;

ES 2 344 814 T3

en los que R_1 es

(i) un átomo de hidrógeno;

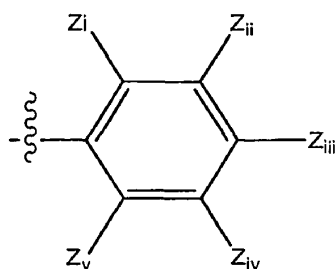
(ii) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

(iii) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono;

(iv) un aralquilo de 7 a 12 átomos de carbono;

(v) fenilo;

(vi) fenilo sustituido



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-\text{OR}_x$, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

(vii) una molécula marcadora detectable; o

(viii) una cadena de alqueno de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive, lineal o ramificada;

en la que Q_1 es $\text{C}=\text{O}$, SO_2 o CN , a condición de que cuando Q_1 es CN , entonces X está ausente;

en la que uno de R_2 y R_3 es un átomo de hidrógeno y el otro es

(a) H ;

(b) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

(c) un cicloalquilo de 3 a 6 átomos de carbono, inclusive;

(d) un alqueno de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada; o

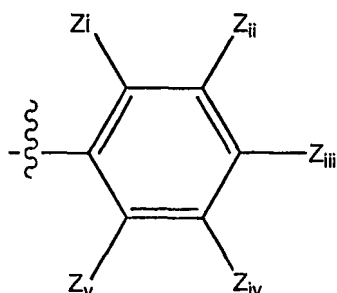
(e) $\text{R}_a\text{Q}_2\text{R}_b$ en el que Q_2 es $-\text{O}-$ o $-\text{S}-$; en el que R_a es alqueno de 0 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada y en la que R_b es alquilo de 0 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada, a condición de que cuando R_b es 0, entonces R_b es un átomo de hidrógeno;

en la que R_4 es

(a) H ;

(b) un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en la que R_5 es



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-\text{OR}_x$, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo o un grupo alquilo sustituido o no sustituido, ramificado o no ramificado;

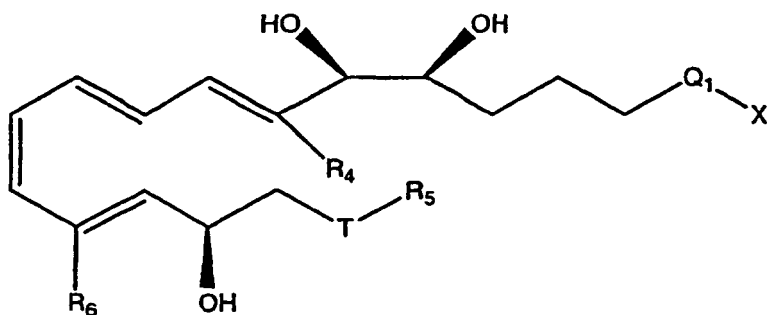
en la que R_6 es

(a) H;

(b) un alquilo de 1 hasta 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

en la que T es O o S, y sus sales farmacéuticamente aceptables.

En un aspecto, las lipoxinas y los análogos de lipoxinas útiles como agentes terapéuticos en el tratamiento de enfermedades, estados de enfermedad o afecciones descritas a lo largo de la memoria descriptiva tienen la fórmula:



en la que X es R_1 , OR_1 , o SR_1 ;

en la que R_1 es

(i) un átomo de hidrógeno;

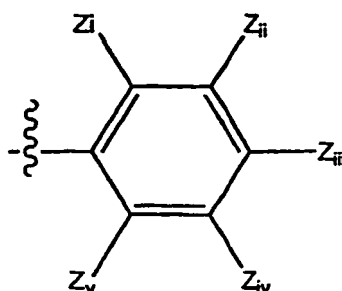
(ii) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

(iii) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono;

(iv) un aralquilo de 7 a 12 átomos de carbono;

(v) fenilo;

(vi) fenilo sustituido



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-\text{OR}_x$, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

(vii) una molécula marcadora detectable; o

(viii) un alqueno de cadena lineal o ramificada de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive;

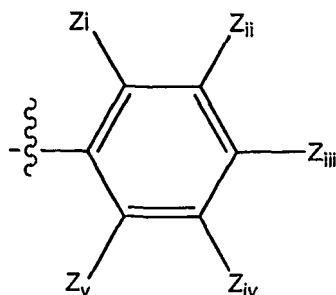
en la que Q_1 es $(\text{C}=\text{O})$, SO_2 o (CN) , a condición de que cuando Q_1 es CN , entonces X está ausente;

en la que R_4 es

(a) H ;

(b) un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en la que R_5 es



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-\text{OR}_x$, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo o un grupo alquilo sustituido o no sustituido, ramificado o no ramificado;

en la que R_6 es

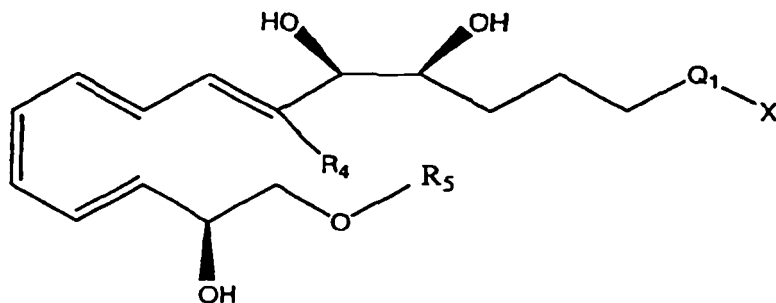
(a) H ;

(b) un alquilo de 1 hasta 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

en la que T es O o S , y sus sales farmacéuticamente aceptables.

ES 2 344 814 T3

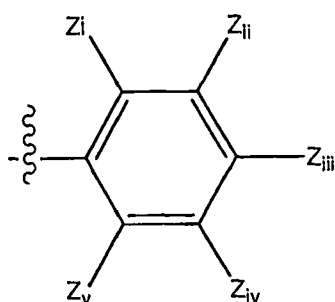
En un aspecto, las lipoxinas y los análogos de lipoxinas útiles como agentes terapéuticos en el tratamiento de enfermedades, estados de enfermedad o afecciones descritas a lo largo de la memoria descriptiva tienen la fórmula:



en la que X es R_1 , OR_1 , o SR_1 ;

en los que R_1 es

- (i) un átomo de hidrógeno;
- (ii) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;
- (iii) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono;
- (iv) un aralquilo de 7 a 12 átomos de carbono;
- (v) fenilo;
- (vi) fenilo sustituido



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-OR_x$, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

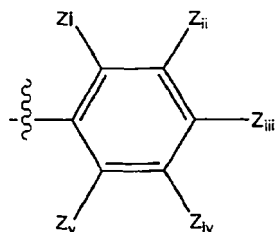
(vii) una molécula marcadora detectable; o

(viii) un alquenilo de cadena lineal o ramificada de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive;

en la que R_4 es

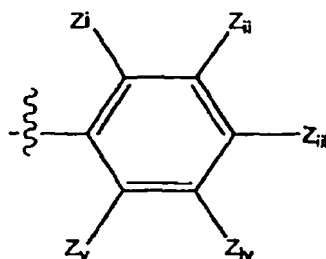
- (a) H;
- (b) un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en la que R_5 es



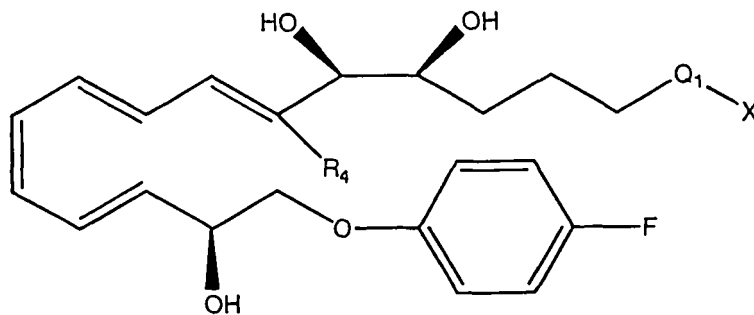
en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-\text{OR}_x$, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo o un grupo alquilo sustituido o no sustituido, ramificado o no ramificado; y sus sales farmacéuticamente aceptables.

En formas de realización de preferencia, X es OR_1 en el que R_1 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo de 1 a 4 átomos de carbono o una sal farmacéuticamente aceptable, Q_1 es $\text{C}=\text{O}$, R_2 y R_3 , si están presentes, son átomos de hidrógeno, R_4 es un átomo de hidrógeno o metilo, Q_3 y Q_4 , si están presentes, son ambos O, R_6 , si está presente, es un átomo de hidrógeno, Y_1 , si está presente, es OH, T es O y R_5 es un fenilo sustituido, por ejemplo,



en la que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v se seleccionan cada uno independientemente de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-\text{OR}_x$, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo. En ciertas formas de realización para R_5 , son de preferencia para-fluorofenilo y/o fenilo no sustituido, por ejemplo, 15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxi-LXA₄, 16-(para-fluoro)-fenoxi-LXA₄, 15-epi-16-fenoxi-LXA₄ o 16-fenoxi-LXA₄.

Las composiciones farmacéuticas pueden incluir compuestos usados en la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Un compuesto de preferencia es



En una forma de realización, Q_1 es un carbonilo, X es un hidroxilo o un $-\text{OR}$, en el que R es un grupo alquilo, es decir, grupos metilo o etilo, y R_4 es un átomo de hidrógeno.

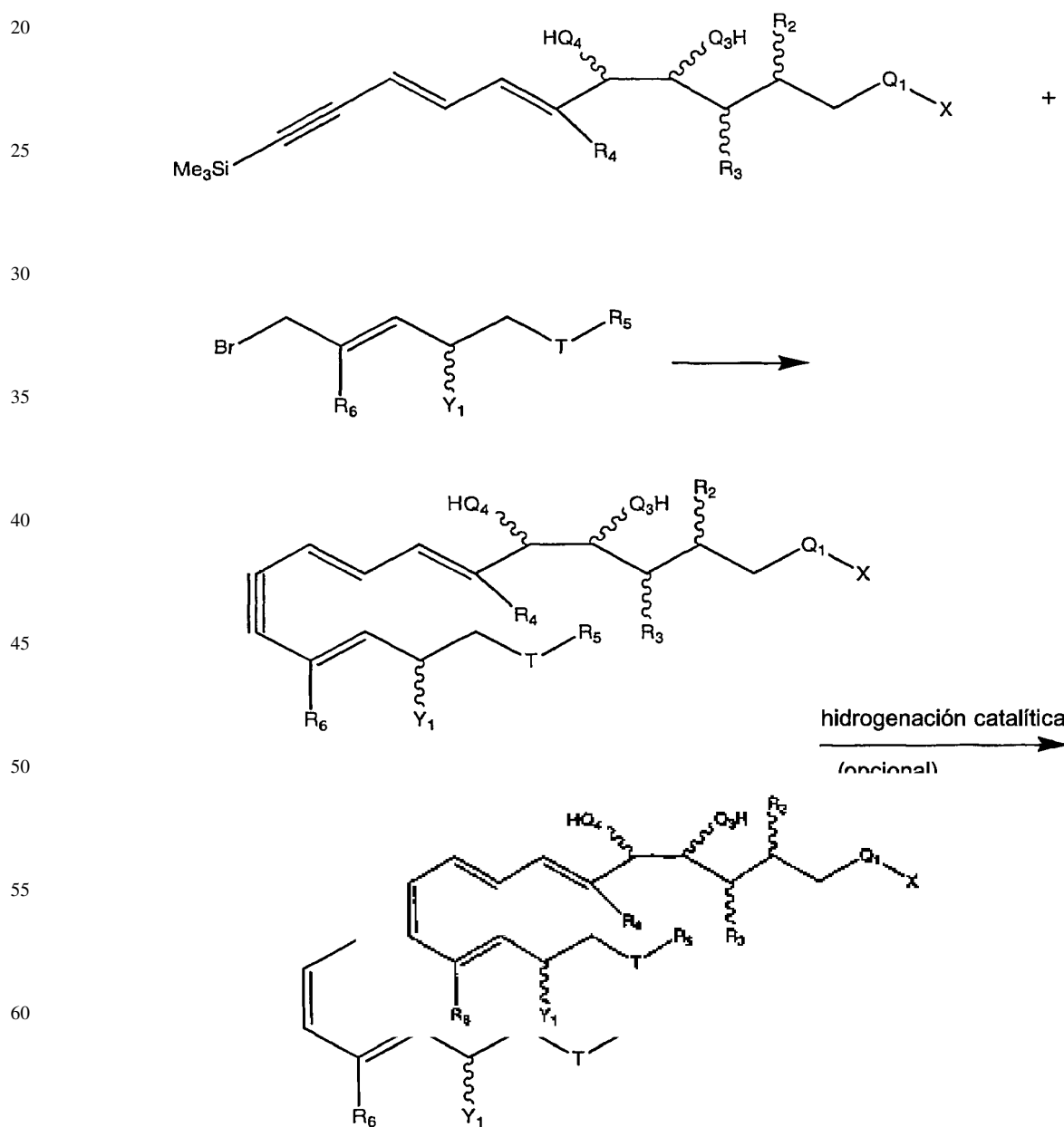
En otra forma de realización, Y_1 es un hidroxilo y el carbono que lleva el hidroxilo puede tener una configuración R o S. En formas de realización de mayor preferencia, el carbono quiral que lleva el grupo hidroxilo, por ejemplo, Y_1 , se denomina una 15-epi-lipoxina como se conoce en la técnica.

En ciertas formas de realización la quiralidad de los carbonos que llevan los grupos R_2 , R_3 , Q_3 y Q_4 puede ser cada una independientemente R o S. En formas de realización de preferencia, Q_3 y Q_4 tienen las quiralidades mostradas de las estructuras a las que se hizo referencia anteriormente.

En formas de realización de preferencia, R_4 es a hidrógeno. En otras formas de realización de preferencia, R_6 es un hidrógeno.

Además, R_5 puede ser un grupo alquilo sustituido o no sustituido, ramificado o no ramificado, que tiene entre 1 y aproximadamente 6 átomos de carbono, de preferencia entre 1 y 4 átomos de carbono, de mayor preferencia entre 1 y 3, y de preferencia uno o dos átomos de carbono. Los átomos de carbono pueden tener sustituyentes que incluyen átomos de halógeno, grupos hidroxilo, o grupos éter.

Los compuestos útiles en la presente invención pueden prepararse por medio del siguiente esquema sintético:



En la que X, Q₁, Q₃, Q₄, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆, Y₁ y T son como se definieron anteriormente. Para producir cada fragmento pueden usarse los procedimientos adecuados conocidos en la técnica. Por ejemplo, el fragmento acetilénico puede prepararse por medio de los procedimientos analizados en Nicolaou, K.C. y col. (1991) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 30:1100; Nicolaou, K.C. y col. (1989) *J. Org. Chem.* 54:5527; Webber, S.E. y col. (1988) *Adv. Exp. Med. Biol.* 229:61; y Patente de EE.UU. 5.441.951. El segundo fragmento puede prepararse por los procedimientos de Raduchel, B. y Vorbruggen, H. (1985) *Adv. Prostaglandin Thromboxane Leukotriene Res.* 14:263. Como consecuencia de esto, la presente invención también incluye los intermediarios acetilénicos por ser útiles para los tratamientos de diversas enfermedades descritas en el presente documento. Pueden elegirse enfoques similares para producir compuestos acetilénicos de LXB₄ como se desvela en, por ejemplo, la Patente de EE.UU. N° 6.316.648.

Un “análogo de lipoxina” significa un compuesto que tiene una “región activa” que funciona como la región activa de una “lipoxina natural”, pero que presenta una “región de transformación metabólica” que difiere de la lipoxina natural. Los análogos de lipoxina incluyen compuestos que son estructuralmente similares a una lipoxina natural, compuestos que comparten el mismo lugar de reconocimiento del receptor, compuestos que comparten la misma o similar región de transformación metabólica que la lipoxina y compuestos reconocidos en la técnica por ser análogos de lipoxina. Los análogos de lipoxina incluyen los metabolitos de los análogos de lipoxina. Los compuestos descritos en el presente documento pueden contener uno o más centros de asimetría. Cuando están presentes átomos de carbono asimétricos, son posibles más de un estereoisómero y se pretende incluir a todas las formas isoméricas posibles en las representaciones estructurales mostradas. Los isómeros (R) y (S) ópticamente activos pueden separarse utilizando técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica. Se pretende que la presente invención incluya los diastereoisómeros posibles así como también los isómeros racémicos y los ópticamente separados.

Los términos “lipoxina correspondiente” y “lipoxina natural” se refieren a una lipoxina o a un metabolito de la lipoxina que se presentan naturalmente. Cuando un análogo presenta actividad para un receptor específico de lipoxina, la lipoxina correspondiente o natural es el ligando normal para dicho receptor. Por ejemplo, cuando un análogo es un receptor específico de LXA₄ en células HL-60 diferenciadas, la lipoxina correspondiente es LXA₄.

Cuando un análogo presenta actividad como antagonista de otro compuesto (tal como un leucotrieno C₄ y/o leucotrieno D₄), que es antagonizado por una lipoxina que se presenta naturalmente, esa lipoxina natural es la lipoxina correspondiente.

“Región activa” significa la región de una lipoxina natural o análogo de lipoxina, que está asociada con las interacciones celulares *in vivo*. La región activa puede unirse al “lugar de reconocimiento” de un receptor de lipoxina natural o a una macromolécula o un complejo de macromoléculas, que incluye una enzima y su cofactor. Por ejemplo, los análogos de lipoxina A₄ presentan una región activa que comprende C₅-C₁₅ de la lipoxina A₄ natural. De manera similar, por ejemplo, los análogos de lipoxina B₄ presentan una región activa que comprende C₅-C₁₄ de la lipoxina B₄ natural.

El término “lugar de reconocimiento” o receptor está reconocido en la técnica y se refiere generalmente a una macromolécula funcional o a un complejo de macromoléculas con las que ciertos grupos de mensajeros celulares, tales como las hormonas, leucotrienos y lipoxinas, deben primero interactuar antes de que se inicien las respuestas bioquímicas y fisiológicas para dichos mensajeros. Como se usa en esta solicitud, un receptor puede estar aislado, en una célula intacta o permeabilizada o en un tejido, incluido un órgano. Un receptor puede ser de un sujeto vivo o puede estar en un sujeto vivo, o puede clonarse. Un receptor puede existir normalmente o puede inducirse por un estado de enfermedad, por una herida o por medios artificiales. Un compuesto de esta invención puede unirse de manera reversible, irreversible, competitiva o no competitiva con respecto al sustrato natural de un lugar de reconocimiento.

El término “región de transformación metabólica” significa generalmente aquella parte de una lipoxina, un metabolito de la lipoxina o un análogo de la lipoxina que incluye un metabolito de un análogo de la lipoxina, sobre el que una enzima o una enzima y su cofactor intenta realizar una o más transformaciones metabólicas que dicha enzima o enzima y cofactor normalmente transforman en lipoxinas. La región de transformación metabólica puede o no ser susceptible a la transformación. De manera similar, tales regiones están posiblemente localizadas dentro de los análogos de ATL y LXB₄. Un ejemplo no limitante de una región de transformación metabólica de una lipoxina es una parte de LXA₄ que incluye el doble enlace C_{-13,14} o el grupo hidroxilo C₋₁₅, o ambos.

El término “molécula marcadora detectable” pretende incluir moléculas fluorescentes, fosforescentes y radiomarcadas utilizadas para marcar, seguir o identificar el compuesto o el lugar de reconocimiento del receptor al que está unida la molécula marcadora detectable. La molécula marcadora puede detectarse por medio de cualquiera de varios procedimientos conocidos en la técnica.

El término “análogo marcado” se entiende además que incluye compuestos que están marcados con isótopos radioactivos, tales como pero no limitados al tritio (³H), deuterio (²H), carbono (¹⁴C), o marcados de otro modo (por ejemplo de manera fluorescente). Los compuestos de esta invención pueden marcarse o derivatizarse, por ejemplo, para experimentos cinéticos de unión, para esclarecer las rutas metabólicas y los mecanismos enzimáticos, o para la caracterización por medio de procedimientos conocidos en la técnica de la química analítica.

El término “inhibe el metabolismo” significa el bloqueo o la reducción de la actividad de una enzima que metaboliza un eicosanoide nativo. El bloqueo o la reducción puede producirse por enlace covalente, por enlace irreversible,

por enlace reversible que tiene un efecto práctico de enlace irreversible, o mediante cualquier otro medio que evita que la enzima actúe en su forma habitual sobre otro análogo de lipoxina, incluidos un metabolito de un análogo de lipoxina, una lipoxina o un metabolito de la lipoxina. De manera similar, esto también se aplica a análogos de ATL y LXB₄.

El término “resiste el metabolismo” pretende incluir el fracaso para sufrir una o más de las transformaciones metabólicas de degradación de al menos una de las enzimas que metabolizan lipoxinas, análogos ATL y LXB₄. Dos ejemplos no limitantes de análogos de LXA₄ que resisten el metabolismo son 1) una estructura que no puede oxidarse a la forma 15-oxo, y 2) una estructura que puede oxidarse a la forma 15-oxo, pero que no es susceptible de reducción enzimática a la forma 13,14-dihidro.

El término “experimenta el metabolismo más lentamente” significa que tiene una cinética de reacción más lenta, o que necesita más tiempo para completar una serie de transformaciones metabólicas por una o más de las enzimas que metabolizan lipoxina, análogos de lipoxina, análogos ATL y LXB₄. Un ejemplo no limitante de un análogo de LXA₄ que experimenta el metabolismo más lentamente es una estructura que tiene una energía de estado de transición más elevada para la deshidrogenación C-15 que la que presenta LXA₄ porque el análogo tiene un impedimento estérico en la posición C-16.

El término “tejido” pretende incluir células intactas, sangre, preparaciones de sangre tales como plasma y suero, huesos, articulaciones, músculos, músculos lisos y órganos.

El término “halógeno” pretende incluir al flúor, cloro, bromo y yodo, o fluoro, cloro, bromo y yodo.

La invención se ilustra además por medio de los siguientes ejemplos que no deben en absoluto considerarse como limitantes. Debe entenderse que los modelos usados en los ejemplos son modelos aceptados y que la demostración de eficacia en estos modelos es predictiva de la eficacia en seres humanos.

Materiales y Procedimientos

Cultivo Celular

Se aislaron células endoteliales de vena de cordón umbilical humano (HUVEC) por digestión con collagenasa al 0,1% (Worthington Biochemical, Bedford, MA) y se propagaron en placas de cultivo tisular recubiertas con gelatina (0,1%) en medio 199 (Gibco BRL, Grand Island, NY) suplementado con suero de ternera fetal inactivado con calor al 20% (BioWhittaker, Walkersville, MD), 50 µg/ml de mitógeno de células endoteliales (Biomedical Technologies, Stoughton, MA), heparina 8 U/ml (APP, Los Angeles, CA), penicilina 50 U/ml y estreptomycin 15 µg/ml. Sólo se usaron los pasajes 2 y 3 en los experimentos reseñados.

Proliferación de Células Endoteliales

Se sembraron células HUVEC (5x10³) en placas de 96 pocillos recubiertas con gelatina al 0,1% durante 1 hora a temperatura ambiente. Tras 24 horas, se retiró el medio y se reemplazó con medio 199 fresco suplementado con suero de ternera fetal al 5% y diferentes concentraciones de VEGF₁₆₅ recombinante humano (R&D Systems, Mineápolis, MN), LTD₄ o LTB₄. Se determinó el número de células endoteliales tras 72 horas usando el ensayo de MTT® (Sigma, St. Louis, MO) (15). Se preparó ATL-1 como en Clish y col. (13). Se evaluó el porcentaje de inhibición de una manera similar y se incluyó una incubación durante 15 minutos (37°C) con 15-epi-lipoxina A₄, 15-epi-16-(para-fluoro)-fenoxi-lipoxina A₄ metil éster (ATL-1), LXA₄, 15-epi-LXA₄ o 15-R/S-metil, LXA₄ previo a añadir los antagonistas. Todas las incubaciones se realizaron por triplicado. Antes de cada experimento se evaluó la integridad y la concentración de ATL-1, LXA₄, 15-epi-LXA₄ o 15-R/S-metil, LXA₄ por medio de procedimientos físicos incluidos LC/MS/MS y UV (13).

Migración de Células Endoteliales

Se añadió VEGF, ATL-1 o vehículo a los pocillos inferiores de una cámara de quimiotaxis de 48 pocillos (Neuro-Probe, Cabin John, MD). Los pocillos se cubrieron con un filtro de policarbonato con un tamaño de poro de 10 µm recubierto con gelatina al 0,1%. Se colocaron las células HUVEC (1x10⁶) en los pocillos superiores y se incubó la cámara (37°C, CO₂ al 5% durante 12 horas). Tras las incubaciones, se retiraron los filtros, se rasparon las células de la superficie superior, se fijaron y tiñeron con Diff-Quick (Dade Behring, Newark, DE). Se determinó el número de células que migraron a través del filtro hacia la superficie inferior por microscopía óptica; se contaron cuatro campos con aumento alto (100X). Las incubaciones se realizaron por triplicado. Para evaluar la inhibición, se suspendieron células endoteliales en medio con vehículo o ATL-1 durante 15 minutos antes de colocarlas en la cámara.

Determinación Cuantitativa de la Fragmentación del ADN

La fragmentación del ADN en células apoptóticas individuales se cuantificó usando un inmunoensayo enzimático fotométrico (Kit de detección de apoptosis: R&D Systems). Las células HUVEC cultivadas en placas de microvaloración de 96 pocillos (5 X 10³ células/pocillo) se incubaron durante 3 días, se fijaron con formaldehído al 3,7% y se

permeabilizaron con proteinasa K antes del marcado. Se incorporaron nucleótidos biotinilados en los fragmentos de ADN y se detectaron usando el conjugado estreptavidina-peroxidasa del rábano picante seguido por el sustrato TACS-Sapphire.

5 *Angiogénesis inflamatoria*

Se evaluó la angiogénesis con bolsas de aire murinas que se elevaron por medio de inyección subcutánea de aire estéril (3 ml) debajo de la piel dorsal de ratones anestesiados (BALB/c, machos de 6-8 semanas). Tras 24 horas, se administró ATL-1 (10 μ g/bolsa) o vehículo localmente, inmediatamente antes de la inyección de VEGF (1 μ g/bolsa). El contenido vascular se evaluó por la formación de moldes vasculares (como en 16). Brevemente, se anestesiaron los ratones (a las 144 horas) y se elevó una vasodilatación periférica colocando a los animales en un saco caliente (40°C, 10 min). Los moldes vasculares se formaron por la inyección i.v. de 1 ml de rojo carmín al 5% (Sigma) en disolución de gelatina al 5% calentada a 40°C. Se disecaron y pesaron los revestimientos de las bolsas de aire. A continuación se disolvió el tejido en 2 ml de disolución de NaOH 3N durante 0,5 horas, a 21°C y se digirió completamente en agua caliente (56°C) durante 10 minutos. Las muestras digeridas se centrifugaron (2500 rpm, 15 minutos) y se filtraron a través de un filtro de 0,45 μ m. Se cuantificó el contenido de colorante usando un espectrofotómetro de placas de 96 pocillos a 530 nm usando una curva de calibración. Los resultados se expresaron como índice vascular (VI) como microgramos de colorante carmín/miligramos de peso de tejido, para $n = 4$ animales/grupo. Para la visualización de la vasculatura, se extirpó la superficie dorsal de las bolsas de aire y se fijó en formalina durante 48 horas. Se deshidrataron los tejidos con etanol al 100% (5 días, 4°C) y se aclararon por inmersión en aceite de cedro durante 2 semanas. En otra serie de experimentos, se anestesiaron ratones y se les inyectaron por vía i.v. 200 μ l de isotiocianato de fluoresceína-dextrano 0,05 g/ml (Sigma) en PBS a las 144 horas inmediatamente antes del sacrificio. Los revestimientos disecados se fijaron, se montaron en portaobjetos de vidrio y se examinaron por fluorescencia (Nikon Eclipse modelo E600). En ambos protocolos, los observadores no estaban cegados para los tratamientos.

25 *Inmunohistoquímica*

Los tejidos membranosos de las bolsas de aire se fijaron en formalina tamponada al 10% durante la noche y se procesaron para incluirlos en parafina. Se usaron secciones de parafina de cinco micrómetros de cortes frontales del tejido membranoso para inmunohistoquímica para expresión de CD31. Brevemente, se desparafinaron los portaobjetos y se les realizó un tratamiento previo en tripsina al 0,25% (Sigma Chemical) durante 20 minutos a 37°C, seguido por lavado con agua destilada. Todas las otras etapas se realizaron a temperatura ambiente en una cámara húmeda. Se realizó un tratamiento previo de los portaobjetos con Peroxidase Block (DAKO, Carpinteria, CA) durante 5 minutos para extinguir la actividad peroxidasa endógena, seguido por una dilución 1:5 de suero de cabra en Tris-Cl 50 mM, pH 7,4, durante 20 minutos para bloquear los lugares de unión inespecíficos. Se aplicó anticuerpo primario anti murino de rata para CD31 (BD PharMingen, San Diego, CA) en una dilución 1:100 en Tris-Cl 50 mM, pH 7,4, con suero de cabra al 3% durante 1 hora. Tras lavar en Tris-Cl 50 mM, pH 7,4, se aplicó el anticuerpo secundario anti rata de conejo (DAKO) en una dilución 1:200 en Tris-Cl 50 mM, pH 7,4, con suero de cabra al 3% durante 30 minutos. Se lavaron los portaobjetos nuevamente en Tris-Cl 50 mM, pH 7,4, y se aplicó anticuerpo anti conejo de cabra conjugado con peroxidasa del rábano picante (Envision detection kit: DAKO) durante 30 minutos. Tras otro lavado, se desarrolló la tinción de inmunoperoxidasa usando un kit de cromógeno DAB (DAKO) por el fabricante y se contratiñó con hematoxilina.

45 *Análisis Estadístico*

Los resultados se presentan como medias $\pm$ EEM. La evaluación estadística de los resultados se realizó por análisis de varianza, y se tomaron los valores de $P < 0,05$ para representar diferencias estadísticamente significativas entre las medias de grupos.

50 *Resultados y Discusión*

El análogo estable de lipoxina A_4 inducida por aspirina (denominado ATL-1) probó ser un potente inhibidor de la proliferación de células HUVEC estimulada por VEGF (CI_{50} de aproximadamente ~ 3 nM) (Figura 1). La inhibición fue dependiente de la concentración y con una meseta máxima a una concentración de 10 nM y revirtió parcialmente (desde $38,0 \pm 2,5$ hasta $78,0 \pm 6,21\%$ de proliferación estimulada por VEGF, $P < 0,05$) al incubar las células con genisteína, un inhibidor de la actividad tirosina cinasa (50 μ M, 5 minutos, 37°C, $n=3$). Incluso a concentraciones elevadas (100 nM), el análogo de ATL-1 solo no tuvo acciones evidentes sobre la proliferación de HUVEC (cuadro inserto de la Figura 1). En fuerte contraste, los análogos estables de LXB_4 aumentaron la proliferación. Como estas son estructuras relacionadas, las acciones separadas de los análogos de ATL y LXB_4 con estas células indican que la respuesta al ATL-1 es altamente estereoselectiva. También, una comparación directa de ATL-1 con LXA_4 nativa y 15-epi- LXA_4 en concentraciones equimolares (10 nM) en un experimento representativo mostró que ATL-1 $>$ 15-epi- LXA_4 $>$ LXA_4 en el orden de clasificación de actividad (por ejemplo, $63,3 \pm 3,3$, $59,8 \pm 1,8$ y $38,1 \pm 2,0\%$ de inhibición, respectivamente). Tras exponer las células a ATL-1, aproximadamente el 98% de las células HUVEC permanecieron viables, según se determina por el ensayo de exclusión con azul tripán, indicando que el compuesto no resultó citotóxico. Además de ser un mitógeno específico de células endoteliales, VEGF es también un factor de supervivencia endotelial, promoviendo de esta manera la angiogénesis no sólo al estimular la proliferación celular sino también al inhibir la apoptosis de las células endoteliales (17).

Para determinar si esta nueva acción inhibitoria de ATL-1 en la proliferación de HUVEC incluyó apoptosis, se cuantificaron fragmentos de ADN (en Materiales y Procedimientos). Ni la ATL-1 (100 nM) sola ni en combinación con VEGF (3 ng/ml) afectaron el patrón de fragmentación de ADN ($n = 2$, $d = 3$), sugiriendo que las acciones anti-proliferativas del análogo de ATL-1 no eran el resultado de la inducción de la apoptosis en las células endoteliales. La unión de integrinas ag por las células endoteliales está acompañada por una disminución en la actividad supresora de tumores de p53 e inhibición de las rutas apoptóticas, facilitando de esta manera la formación de nuevos vasos sanguíneos (18). A lo largo de estas líneas, se ha mostrado recientemente que p53 puede regular positivamente la actividad promotora de 15-lipooxigenasa humana, que proporciona el primer enlace entre la actividad de esta enzima y un gen supresor de tumores establecido (19). Resulta también de interés que la sobreexpresión de 15-lipooxigenasa potencia la formación de LXA₄ endógena que a su vez inhibe la progresión de la glomerulonefritis (20). Tanto ATL como LXA₄ comparten sitios de acción que son de tipo receptor celular y específicos de tejido, y junto con sus análogos estables muestran potentes acciones antiinflamatorias (21, 23 y 14).

La migración de células endoteliales es un componente esencial del proceso angiogénico, que proporciona direccionalidad para los capilares incipientes hacia el estímulo angiogénico (3). Por consiguiente, la migración endotelial se evaluó con ATL. Se añadió VEGF (3 ng/ml) al compartimento inferior de una cámara de quimiotaxis y se cuantificó la migración celular a través de un filtro de tamaño de poro 10 μ m recubierto con gelatina (Figura 2). Los resultados en la Figura 2B mostraron que ATL-1, LXA₄, 15-epi-LXA₄ y 15-R/S-metil, LXA₄ (ATL-1 mostrado como representativo) dieron inhibición de la migración de HUVEC estimulada con VEGF con un nivel de inhibición máximo (aproximadamente 45%) a una concentración de ATL de 10 nM. Como se observó con los ensayos de proliferación, ATL-1, LXA₄, 15-epi-LXA₄ o 15-R/S-metil, LXA₄ solo, aún en concentraciones más altas (100 nM), no indujeron migración de células endoteliales (Figura 2A), hallazgos que sugieren que ATL, LXA₄, 15-epi-LXA₄ o 15-R/S-metil, LXA₄ desempeñan un papel en el bloqueo de etapas tempranas de la migración celular hacia los lugares de neovascularización.

Como VEGF (Figura 1), LTD₄ también estimuló la proliferación de HUVEC ($42 \pm 1,2\%$) con un máximo a 10 nM, similar a la respuesta obtenida con VEGF ($52,7 \pm 1,6\%$). En contraste, LTB₄ a 10 nM no dio una respuesta significativa con estas células (Figura 3B). La acción mitogénica de LTD₄ (10 nM) se antagonizó por la exposición de las células a ATL-1 (0,1-100 nM) con una CI₅₀ de ~ 3 nM (Figura 3A). LTD₄ no aumentó ni inhibió la proliferación estimulada por VEGF.

Las acciones antiproliferativas de las lipoxinas nativas se hallaron primero con la línea celular de adenocarcinoma de pulmón humano (23) y recientemente con células mesangiales renales humanas (24). Los presentes hallazgos, junto con los resultados de células endoteliales, llaman la atención al potencial papel regulador de la ATL endógena en enfermedades proliferativas. Las acciones de LX, ATL y análogos estables se transducen por un receptor transmembranario de alta afinidad (ALXR) identificado en varios tipos celulares (para una revisión, véase Chiang y col. (25)). En células mesangiales, LXA₄ interactúa con su propio receptor de alta afinidad (es decir, ALXR) así como con una subclase de receptores de péptido-leucotrieno (cysLT1), donde LXA₄ es un agonista parcial (24). Al respecto, LXA₄ y sus análogos estables bioactivos desplazan eficazmente la unión específica de [³H]LTD₄ a las células endoteliales vasculares (26). También, hallazgos recientes proporcionan la primera evidencia de que ATL antagoniza específicamente la unión específica de LTD₄ en cysLT1 humanos recombinantes clonados de células endoteliales, así como también actúa en receptores específicos de LXA₄ (21). Como ATL-1 probó ser un potente inhibidor de la proliferación de HUVEC (Figuras 1, 2 y 3), se determinó si ATL afectó la angiogénesis *in vivo*.

Durante la inflamación crónica, son necesarios nuevos vasos no sólo para el mantenimiento de la perfusión tisular, sino también para permitir el tráfico celular aumentado (27). Por consiguiente, con este fin se evaluó la angiogénesis *in vivo* usando un modelo bien establecido de bolsa de aire granulomatosa crónica murina, y se seleccionó el intervalo de tiempo de 6 días porque se mostró que da una densidad vascular prácticamente máxima (16). ATL-1 inyectado localmente (10 μ g/bolsa) inmediatamente antes de la administración de VEGF (1 μ g/bolsa) dio una reducción de -48% en el índice vascular (Figura 4A). Para comparación, ATL-1 (10 μ g/ratón o 0,4 mg/kg ratón) probó ser mucho más potente que otros agentes antiangiogénicos descritos que requirieron dosis mucho mayores, incluidos esteroides a 1-3 mg/kg (16), o los inhibidores de COX-2, que requieren 1-6 mg/kg (28).

La Figura 4B muestra moldes vasculares representativos de revestimientos típicos de bolsas de aire del día 6. En los ratones a los que se les administró VEGF (Figura 4B, panel inferior izquierdo), hay una neovascularización establecida con un grado extremadamente alto de densidad vascular comparado con capilares sólo ligeramente dilatados en los animales tratados con ATL, donde hubo de forma rutinaria claramente densidad vascular reducida (Figura 4B, panel inferior derecho). En otra serie de experimentos, se usó isocianato de fluoresceína-dextrano para visualizar los vasos en esta región. En fuerte contraste con las acciones de ATL-1, cuando se administró LTB₄ solo, otro producto de la ruta de la lipooxigenasa, en la misma dosis que ATL-1 (10 μ g LTB₄/bolsa), LTB₄ estimuló la neovascularización ($n = 2$).

La Figura 5 muestra fotomicrografías de los revestimientos dorsales disecados en el día 6. Una vez más, se demostró profunda angiogénesis con redes vasculares extensas en bolsas de aire tratadas con VEGF (Figura 5, panel inferior izquierdo). Aquí también, el tratamiento con ATL-1 (10 μ g/bolsa) dio una sorprendente reducción de la vasculatura provocada por VEGF, como se ejemplifica por la falta de capilares finos visibles (Figura 5, panel inferior derecho).

Es importante señalar que ATL-1 a esta dosis (10 μ g/ratón i.v.) no provoca cambios evidentes en la tensión arterial media, excluyendo una posible acción de ATL-1 a nivel del tono vascular. Esto es particularmente notable porque, a

dosis altas, LXA₄ puede estimular la vasodilatación en ciertos lechos vasculares. Los presentes experimentos *in vivo* se realizaron en series separadas para evaluar la histología y la presencia de un marcador vascular usando tinción inmunohistoquímica de la bolsa de aire murina con el marcador de célula endotelial vascular CD31 (Figura 6).

La molécula 1 de adhesión de plaquetas/células endoteliales (o CD31) es un miembro de la superfamilia de las Ig que se expresa de manera marcada en la unión entre células endoteliales, está presente en las plaquetas así como en los leucocitos, y se considera que desempeña un papel en la angiogénesis y en la migración transendotelial de los leucocitos. La tinción inmunohistoquímica para CD31 en las bolsas mostró que, en los ratones tratados con VEGF, estaba presente una fuerte tinción específica de células endoteliales e identificó una prominente red vascular (Figura 6C). En contraste, se observó una marcada disminución de vasos en los ratones tratados con VEGF tratados también con el análogo de LXA₄ (Figura 6D). Los niveles de tinción leve inespecífica asociada con estas bolsas de aire fueron esencialmente idénticos a los de las secciones de bolsas de aire de ratones tratados con vehículo solo (Figura 6A) o con análogo de LX solo (Figura 6B), a saber, tinción leve inespecífica de células inflamatorias, predominantemente leucocitos y macrófagos, que se sabe que están asociados con estas bolsas de aire creadas de piel murina. Tomados juntos, estos hallazgos indican que ATL redujo la angiogénesis estimulada por VEGF *in vivo*, sugiriendo que LXA₄ y 15-epi-LXA₄ pueden regular estas acciones *in vivo*.

Los resultados de muchos estudios clínicos y de laboratorio han demostrado efectos protectores de la aspirina en varias formas de cáncer humano, incluidos el cáncer de pulmón, de colon y de mama, aunque su potencial mecanismo anticáncer no está claro (véase Ref. 9). Se cree que ASA actúa, en parte, a través de la reducción de la angiogénesis, que podría estar relacionada con la capacidad de ASA para inhibir la biosíntesis de prostanoïdes (7). Más recientemente, se encontró que ASA induce un nuevo cambio en la biosíntesis de eicosanoides ya que la acetilación de COX-2 permite a la enzima producir 15R-HETE que se convierte en 15-epi-lipoxinas, también conocidas como ATL, durante las interacciones célula-célula *in vitro* e *in vivo* (11, 12, 14). Las ATL así como sus análogos bioactivos estables son potentes inhibidores de varios acontecimientos fundamentales en la inflamación aguda, tales como la quimiotaxis de PMN y la trans migración a través de las células endoteliales y epiteliales, así como la diapédesis desde las vénulas postcapilares (13, 14). Los análogos de ATL imitan las acciones endógenas de ATL y LX y fueron diseñados para resistir la rápida inactivación enzimática *in vivo*. También se encontró que los análogos bioactivos de 15-epi-LXA₄ compiten en los ALXR en los leucocitos y en el receptor cysLT₁ presente en las células endoteliales vasculares. Además, estos nuevos mediadores inducidos por aspirina inhiben la liberación de citocinas y pueden actuar a nivel transcripcional de genes (29) para redirigir el eje local citocina-quimiocina (30), ambas acciones de interés en el proceso angiogénico (3). Debe notarse que la mayoría sino todos los otros eicosanoides examinados hasta la fecha son proangiogénicos incluidos los leucotrienos (por ejemplo, LTD₄ y LTB₄, véase la siguiente tabla y la Figura 3) (5, 6, 28). En vista de esto, resultó sorprendente que ATL-1, LXA₄, 15-epi-LXA₄ y 15-R/S-metil, LXA₄ tuvieran actividad antiangiogénica.

Proliferación de HUVEC inducida por LXB₄

Compuesto	Porcentaje de Proliferación
14-epi-LXB ₄ 0,1 nM	15,5 ± 1,0
14-epi-LXB ₄ 1,0 nM	18,3 ± 1,6
14-epi-LXB ₄ 10 nM	27,0 ± 5,0
14-epi-LXB ₄ 100 nM	27,7 ± 1,3
15-epi-LXB ₄ 0,1 nM	20,1 ± 1,2
15-epi-LXB ₄ 1,0 nM	26,1 ± 2,8
15-epi-LXB ₄ 10 nM	34,0 ± 2,5
15-epi-LXB ₄ 100 nM	35,2 ± 5,2
15-epi-LXB ₄ -acetilénico 0,1 nM	18,7 ± 1,6
15-epi-LXB ₄ -acetilénico 1,0 nM	23,7 ± 0,4
15-epi-LXB ₄ -acetilénico 10 nM	36,4 ± 3,7
15-epi-LXB ₄ -acetilénico 100 nM	37,4 ± 5,3

Proliferación inducida por VEGF: 50,4 ± 4,0

En resumen, los presentes resultados demuestran que una lipoxina inducida por aspirina, análogo de 15-epi-LXA₄, es un potente inhibidor de la angiogénesis y de la proliferación de células endoteliales *in vivo*. Juntos estos resultados revelan una nueva acción de las 15-epi-lipoxinas y sugieren un papel para el circuito de lipoxina inducida por aspirina (14) como un potencial mecanismo que puede contribuir a las reconocidas propiedades antiangiogénicas y antiinflamatorias de la aspirina (2, 7, 10). Con un mayor entendimiento del papel fundamental de la angiogénesis en una gran variedad de procesos fisiológicos así como de enfermedad (1-3), la modulación del crecimiento vascular podría ser una acción estratégica y anteriormente inadvertida de las ATL, el mimético de lipoxina endógeno natural y sus análogos sintéticos.

Referencias

1. Folkman, J., and Y. Shing. 1992. Angiogenesis. *J. Biol. Chem.* 267:10931-10934.
2. Folkman, J. 1995. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nature Med.* 1:27-31.
3. Arenberg, D.A., and R.M. Strieter. 1999. Angiogenesis. In *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*. J.I. Gallin and R. Snyderman, editors. *Lippincott Williams & Wilkins*, Philadelphia. 851-864.
4. Höper, M.M., N.F. Voelkel, T.O. Bates, J.D. Allard, M. Horan, D. Shepherd, and R.M. Tudor. 1997. Prostaglandins induce vascular endothelial growth factor in a human monocytic cell line and rat lungs via cAMP. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 17:748-756.
5. Nie, D., K. Tang, C. Diglio, and K.V. Honn. 2000. Eicosanoid regulation of angiogenesis: role of endothelial arachidonate 12-lipoxygenase. *Hemost. Thromb. Vasc. Biol.* 95:2304-2311.
6. Stoltz, R.A., N.G. Abraham, and M.L. Schwartzman. 1996. The role of NF-κB in the angiogenic response of coronary microvessel endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:2832-2837.
7. Hla, T., A. Ristimäki, S. Appleby, and J.G. Barriocanal. 1993. Cyclooxygenase gene expression in inflammation and angiogenesis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 696:197-204.
8. Jones, M.K., H. Wang, B.M. Peskar, E. Levin, R.M. Itani, I.J. Sarfeh, and A.S. Tarnawski. 1999. Inhibition of angiogenesis by nonsteroidal anti-inflammatory drugs: Insight into mechanisms and implications for cancer growth and ulcer healing. *Nature Med.* 5:1418-1423.
9. Marcus, A.J. 1995. Aspirin as prophylaxis against colorectal cancer. *N. Engl. J. Med.* 333, no. Sept. 7:656-658.
10. Vane, J. 2000. Aspirin and other anti-inflammatory drugs. *Thorax* 55 (Suppl. 2):S3.
11. Clària, J., and C.N. Serhan. 1995. Aspirin triggers previously undescribed bioactive eicosanoids by human endothelial cell-leukocyte interactions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92, no. 21:9475-9479.
12. Chiang, N., T. Takano, C.B. Clish, N.A. Petasis, H.-H. Tai, and C.N. Serhan. 1998. Aspirin-triggered 15-epilipoxin A₄ (ATL) generation by human leukocytes and murine peritonitis exudates: Development of a specific 15-epi-LXA₄ ELISA. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 287:779-790.
13. Clish, C.B., J.A. O'Brien, K. Gronert, G.L. Stahl, N.A. Petasis, and C.N. Serhan. 1999. Local and systemic delivery of a stable aspirin-triggered lipoxin prevents neutrophil recruitment *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:8247-8252.
14. Serhan, C.N. 1997. Lipoxins and novel aspirin-triggered 15-epi-lipoxins (ATL): a jungle of cell-cell interactions or a therapeutic opportunity? *Prostaglandins* 53:107-137.
15. Marshall, N.J., C.J. Goodwin, and S.J. Holt. 1995. A critical assessment of the use of microculture tetrazolium assays to measure cell growth and function. *Growth Regulation* 5:69-84.
16. Colville-Nash, P.R., C.A.S. Alam, I. Appleton, J.R. Brown, M.P. Seed, and D.A. Willoughby. 1995. The pharmacological modulation of angiogenesis in chronic granulomatous inflammation. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 274:1463-1472.
17. Gupta, K., S. Kshirsagar, W. Li, L. Gui, S. Ramakrishnan, P. Gupta, P.Y. Law, and R.P. Hebbel. 1999. VEGF prevents apoptosis of human microvascular endothelial cells via opposing effects on MAPK/ERK and SAPK/JNK signaling. *Exp. Cell Res.* 247:495-504.

18. **Eliceiri, B.P.**, and **D.A. Cheresch**. 1999. The role of av integrins during angiogenesis: insights into potential mechanisms of action and clinical development. *J. Clin. Invest.* 103:1227-1230.

19. **Kelavkar, U.P.**, and **K.F. Badr**. 1999. Effects of mutant p53 expression on human 15-lipoxygenase-promoter activity and murine 12/15-lipoxygenase gene expression: Evidence that 15-lipoxygenase is a mutator gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:4378-4383.

20. **Munger, K.A.**, **A. Montero**, **M. Fukunaga**, **S. Uda**, **T. Yura**, **E. Imai**, **Y. Kaneda**, **J.M. Valdivielso**, and **K.F. Badr**. 1999. Transfection of rat kidney with human 15-lipoxygenase suppresses inflammation and preserves function in experimental glomerulonephritis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96:13375-13380.

21. **Gronert, K.**, **T. Martinsson-Niskanen**, **S. Ravasi**, **N. Chiang**, and **C.N. Serhan**. 2001. Selectivity of recombinant human leukotriene D4, leukotriene B4, and lipoxin A4 receptors with aspirin-triggered 15-epi-LXA4 and regulation of vascular and inflammatory responses. *Am. J. Pathol.* 158:3-9.

22. **Sodin-Semrl, S.**, **B. Taddeo**, **D. Tseng**, **J. Varga**, and **S. Fiore**. 2000. Lipoxin A4 inhibits IL-1 beta-induced IL-6, IL-8, and matrix metalloproteinase-3 production in human synovial fibroblasts and enhances synthesis of tissue inhibitors of metalloproteinases. *J. Immunol.* 164:2660-2666.

23. **Clària, J.**, **M.H. Lee**, and **C.N. Serhan**. 1996. Aspirin-triggered lipoxins (15-epi-LX) are generated by the human lung adenocarcinoma cell line (A549)-neutrophil interactions and are potent inhibitors of cell proliferation. *Molecular Medicine* 2:583-596.

24. **McMahon, B.**, **C. Stenson**, **F. McPhillips**, **A. Fanning**, **H.R. Brady**, and **C. Godson**. 2000. Lipoxin A4 antagonizes the mitogenic effects of leukotriene D4 in human renal mesangial cells: Differential activation of MAP kinases through distinct receptors. *J. Biol. Chem.* 275:27566-27575.

25. **Chiang, N.**, **K. Gronert**, **F.-H. Qiu**, and **C.N. Serhan**. 2000. Lipoxin A4 receptor. In Cytokine Reference. J.J. Oppenheim, M. Feldmann, S.K. Durum, T. Hirano, J. Vilcek and N.A. Nicola, editors. *Academic Press*, London. 2219-2233.

26. **Takano, T.**, **S. Fiore**, **J.F. Maddox**, **H.R. Brady**, **N.A. Petasis**, and **C.N. Serhan**. 1997. Aspirin-triggered 15-epilipoxin A4 and LXA4 stable analogs are potent inhibitors of acute inflammation: Evidence for anti-inflammatory receptors. *J. Exp. Med.* 185:1693-1704.

27. **Cotran, R.S.**, **V. Kumar**, and **T. Collins**, editors. 1999. *Robbins Pathologic Basis of Disease*. 6th ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia.

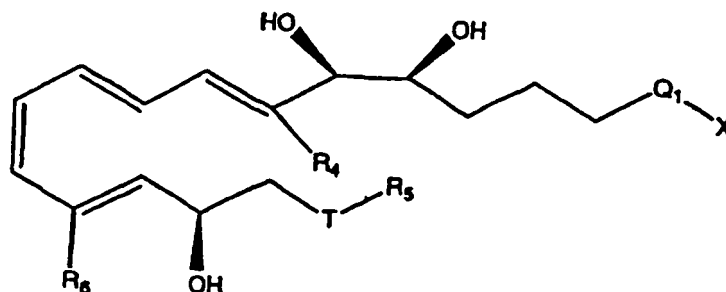
28. **Masferrer, J.L.**, **A. Koki**, and **K. Seibert**. 1999. COX-2 inhibitors: a new class of antiangiogenic agents. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 889:84-86.

29. **Gewirtz, A.T.**, **B. McCormick**, **A.S. Neish**, **N.A. Petasis**, **K. Gronert**, **C.N. Serhan**, and **J.L. Madara**. 1998. Pathogen-induced chemokine secretion from model intestinal epithelium is inhibited by lipoxin A4 analogs. *J. Clin. Invest.* 101:1860-1869.

30. **Hachicha, M.**, **M. Pouliot**, **N.A. Petasis**, and **C.N. Serhan**. 1999. Lipoxin (LX)A4 and aspirin-triggered 15-epi-LXA4 inhibit tumor necrosis factor 1α-initiated neutrophil responses and trafficking: regulators of a cytokine-chemokine axis. *J. Exp. Med.* 189:1923-1929.

REIVINDICACIONES

1. Uso de un compuesto de lipoxina en la fabricación de un medicamento para la prevención o tratamiento reeste-
nosis, teniendo el compuesto de lipoxina la fórmula



en la que X es R_1 , OR_1 , o SR_1 ;

en la que R_1

(i) un átomo de hidrógeno;

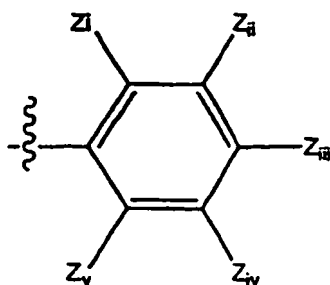
(ii) un alquilo de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

(iii) un cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono;

(iv) un aralquilo de 7 a 12 átomos de carbono;

(v) fenilo;

(vi) fenilo sustituido



en el que Z_i , Z_{ii} , Z_{iii} , Z_{iv} y Z_v están seleccionados cada uno independientemente de $-NO_2$, $-CN$, $-C(=O)-R_1$, $-SO_3H$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-OR_x$, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo;

(vii) una molécula marcadora detectable; o

(viii) un alquenilo de cadena lineal o ramificada de 2 a 8 átomos de carbono, inclusive;

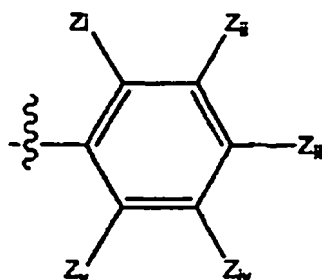
en la que Q_1 es $(C=O)$, SO_2 o (CN) , a condición de que cuando Q_1 es CN , entonces X está ausente;

en la que R_4 es

(a) H;

(b) un alquilo de 1 a 6 átomos de carbono, inclusive, que puede ser de cadena lineal o ramificada;

en la que R_5 es



en la que Z_I , Z_{II} , Z_{III} , Z_{IV} y Z_V están seleccionados cada uno independientemente de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-\text{OR}_x$, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo o un grupo alquilo sustituido o insustituido, ramificado o no ramificado;

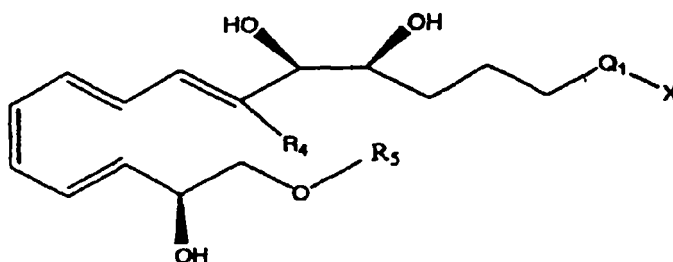
en la que R_6 es

(a) H;

(b) un alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, inclusive, de cadena lineal o ramificada;

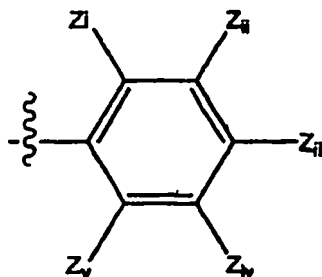
en la que T es O o S, y sus sales farmacéuticamente aceptables.

2. El uso de la reivindicación 1, en el que el compuesto de lipoxina tiene la fórmula



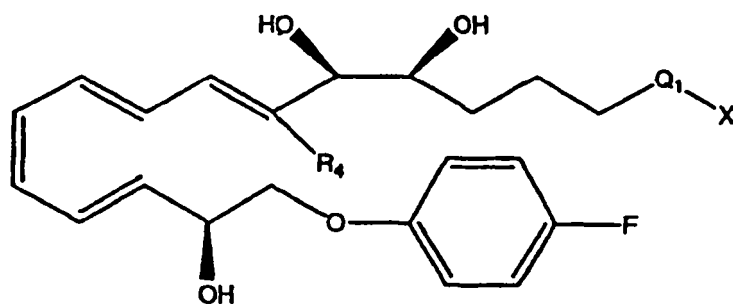
en la que R_4 , R_5 , Q_1 y X son como se definen en la reivindicación 1.

3. El uso de la reivindicación 1 ó 2, en el que X es OR_1 en el que R_1 es un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo de 1 a 4 átomos de carbono o una sal farmacéuticamente aceptable, Q_1 es $\text{C}=\text{O}$, R_2 y R_3 , si están presentes, son átomos de hidrógeno, R_4 es un átomo de hidrógeno o un metilo, Q_3 y Q_4 , si están presentes, son ambos O, R_6 , si está presente, es un átomo de hidrógeno, Y_1 , si está presente, es OH, T es O y R_5 es un fenilo sustituido,



en la que Z_I , Z_{II} , Z_{III} , Z_{IV} y Z_V están seleccionados cada uno independientemente de $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{C}(=\text{O})-\text{R}_1$, $-\text{SO}_3\text{H}$, un átomo de hidrógeno, halógeno, metilo, $-\text{OR}_x$, en el que R_x es de 1 a 8 átomos de carbono, inclusive, que puede ser una cadena lineal o ramificada, e hidroxilo.

4. El uso de la reivindicación 1, en el que el compuesto de lipoxina tiene la fórmula



en la que R_4 , Q_1 y X son como se definen en la reivindicación 1.

5. El uso de la reivindicación 4, en el que Q_1 es un carbonilo, X es un hidroxilo o un -OR, en el que R es un grupo alquilo, es decir, grupos metilo o etilo, y R_4 es un átomo de hidrógeno.

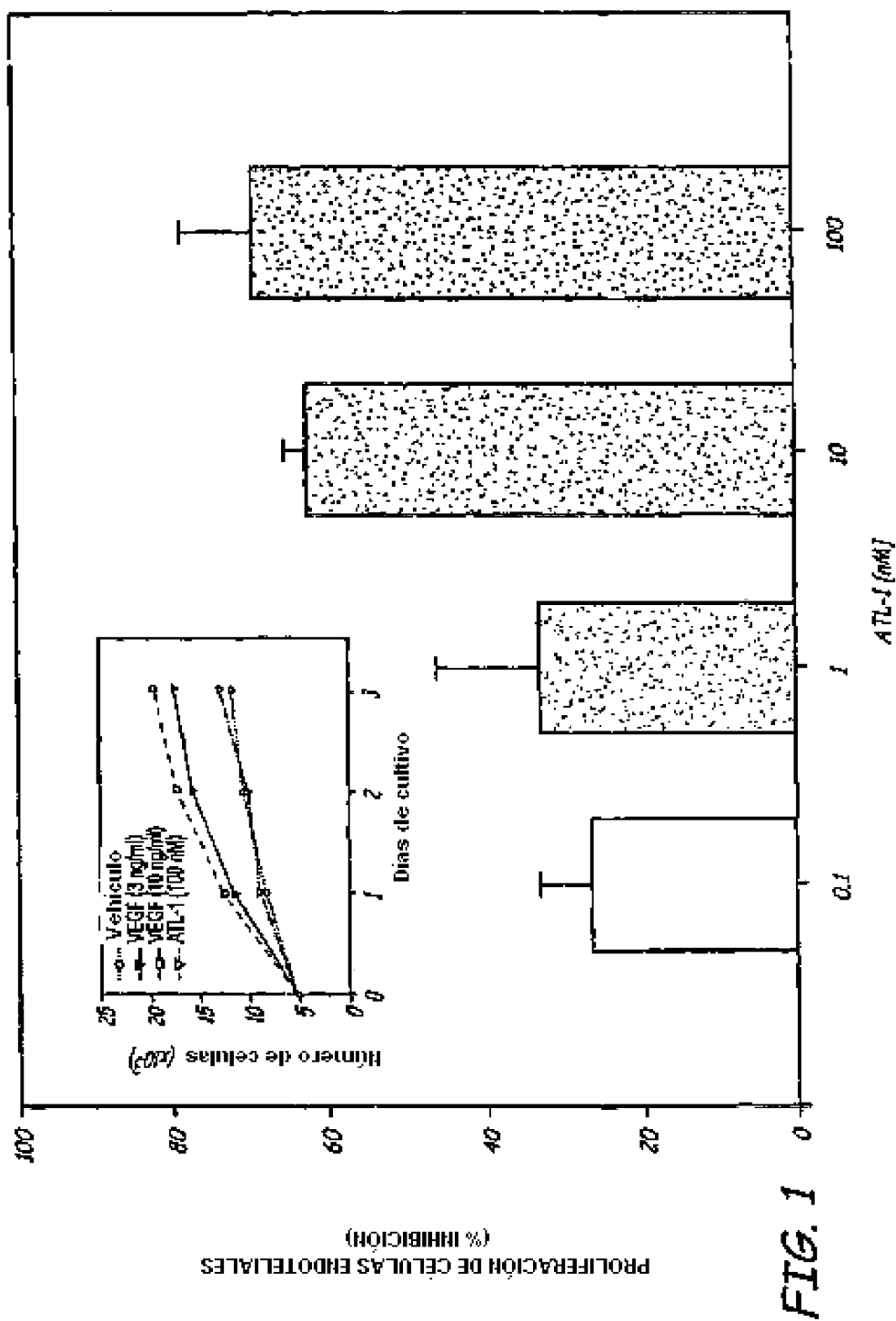
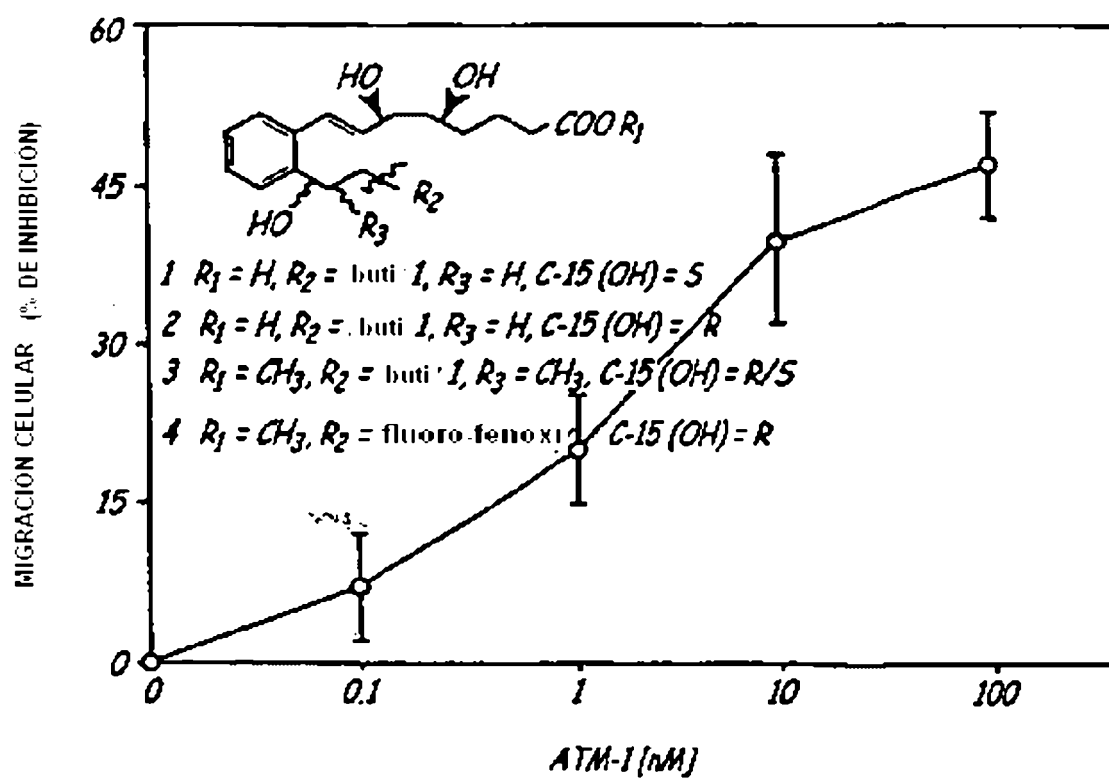
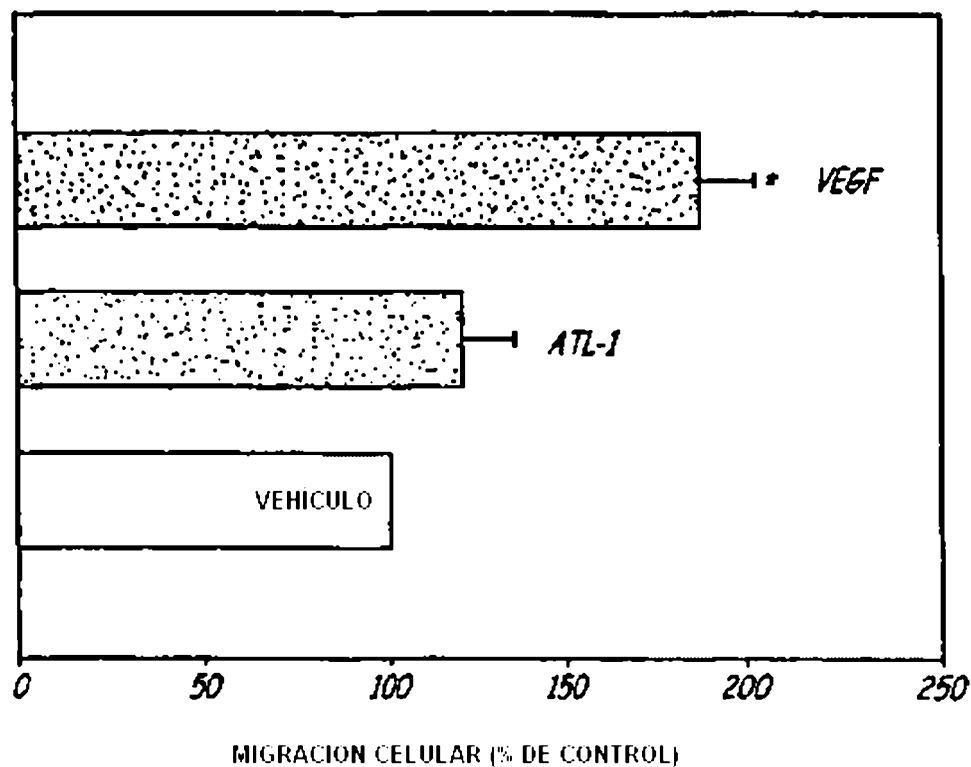


FIG. 2



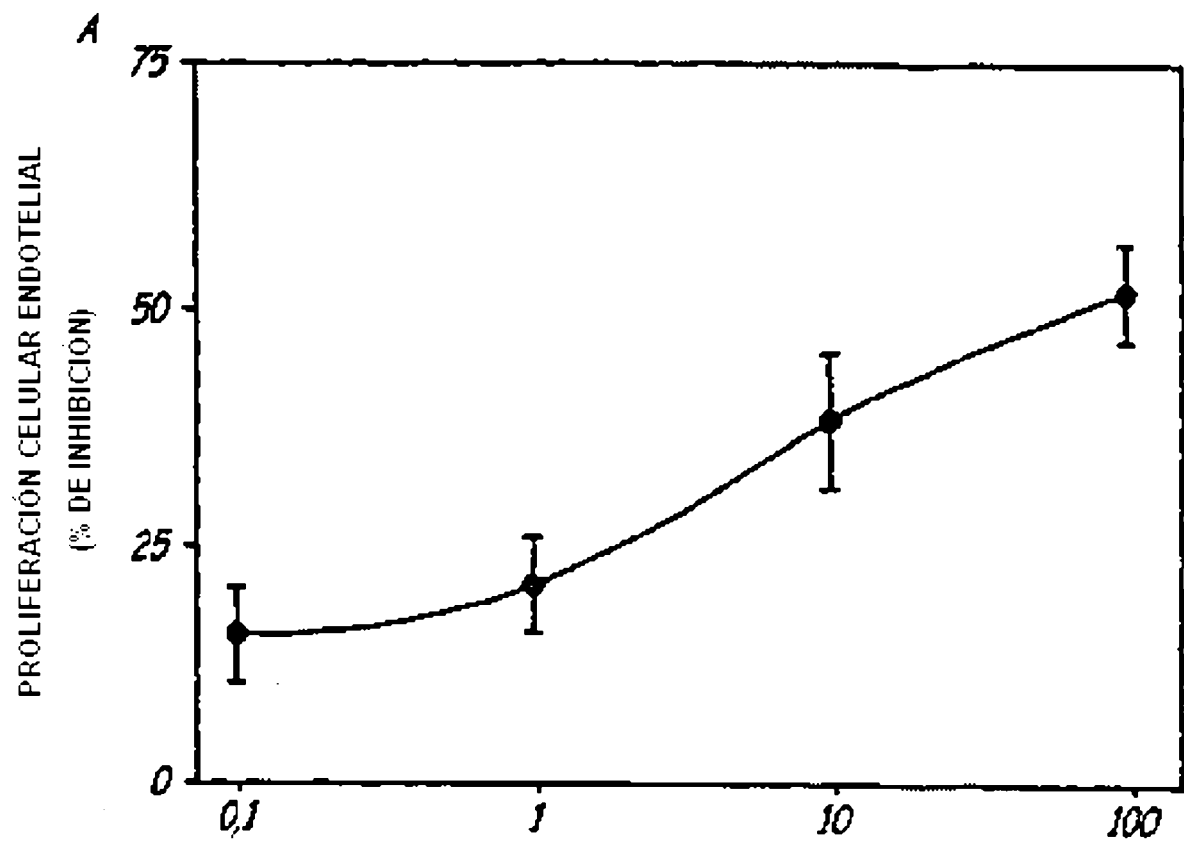


FIG. 3A

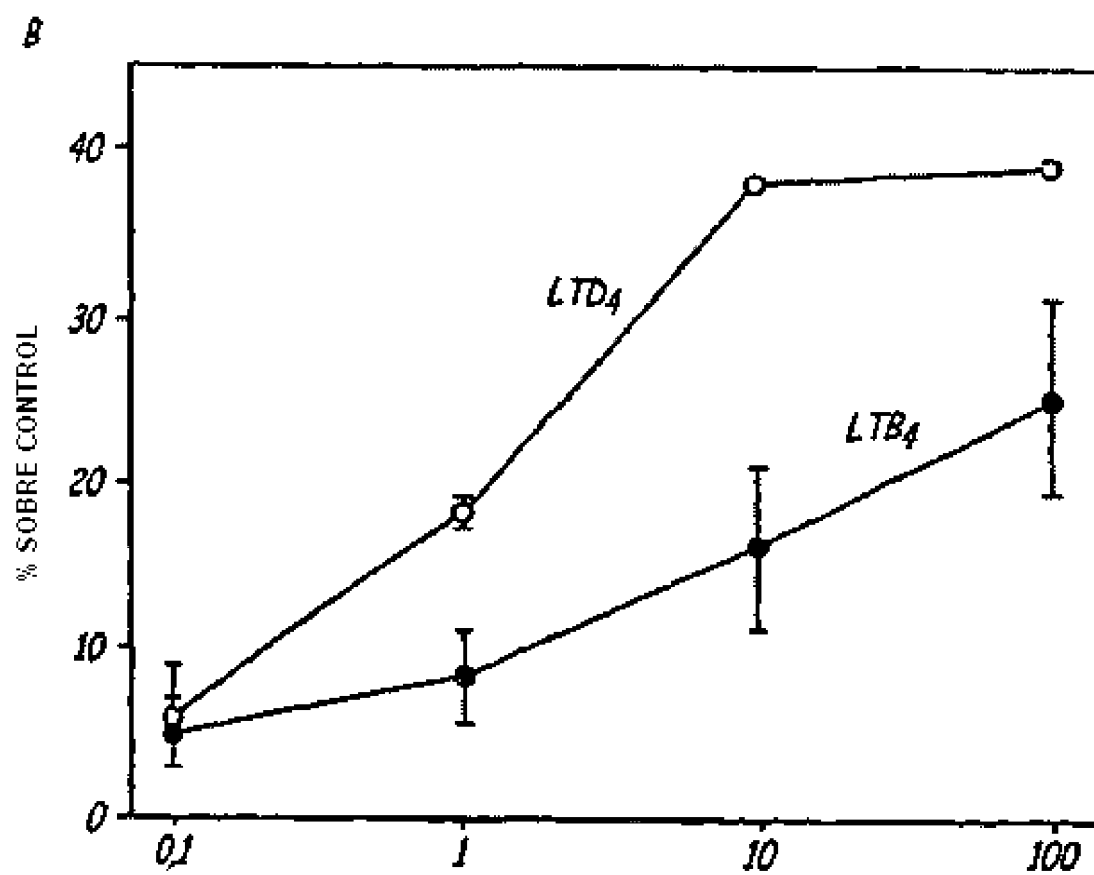


FIG. 3B

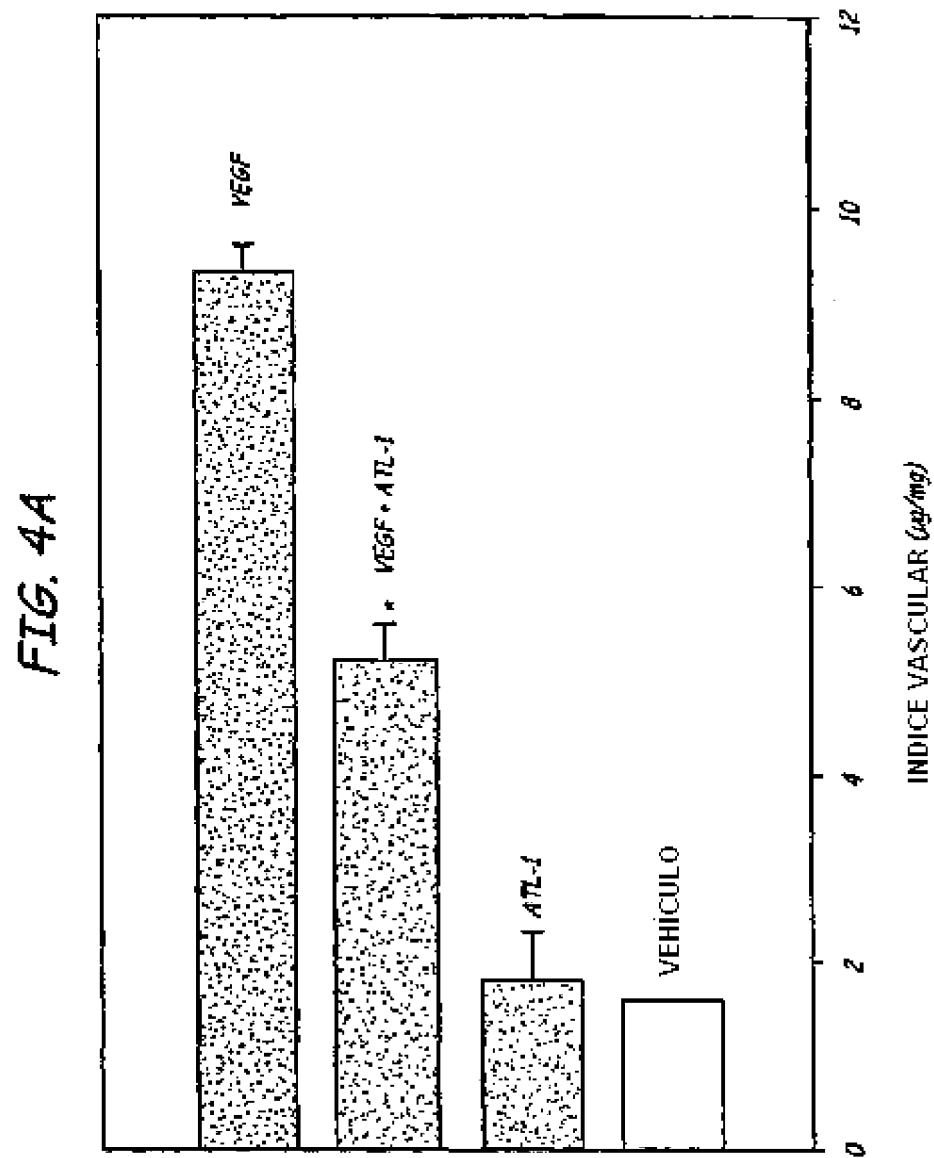


FIG. 4B

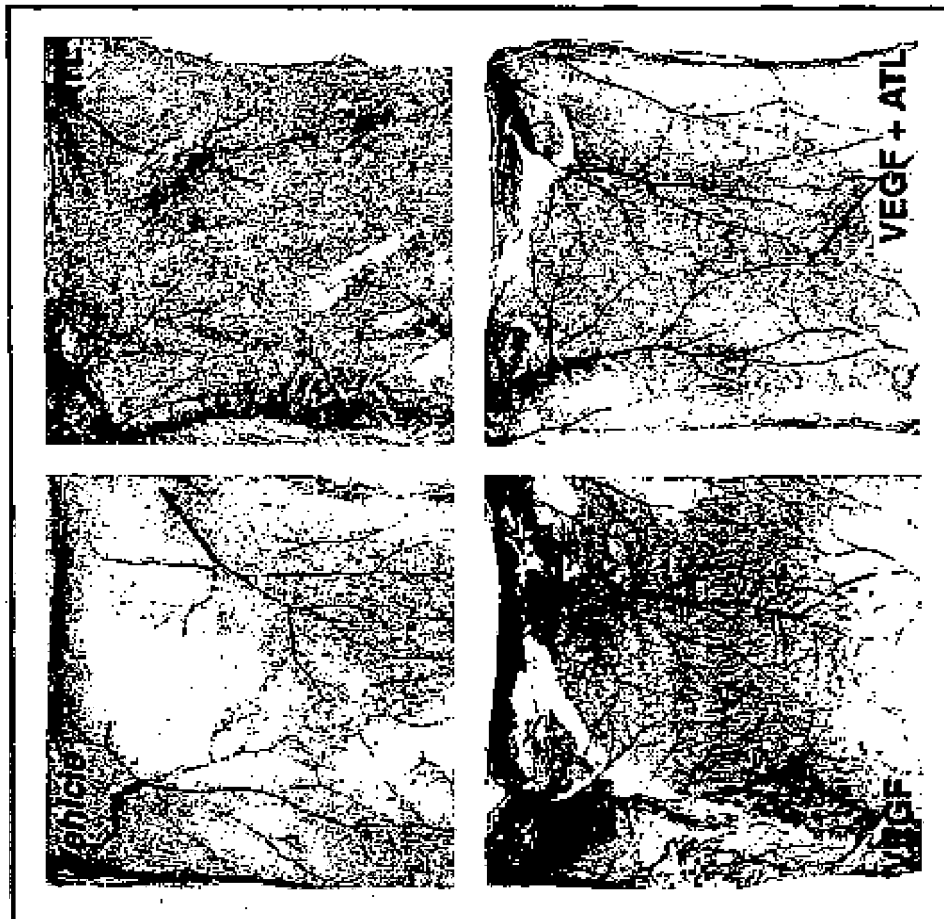


FIG. 5

