



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 330 728**

51 Int. Cl.:
A61K 31/555 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 39/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **02717355 .8**
96 Fecha de presentación : **22.01.2002**
97 Número de publicación de la solicitud: **1392328**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **03.03.2004**

54 Título: **Medicamento para protección en radioterapia.**

30 Prioridad: **19.01.2001 US 262390 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
15.12.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
15.12.2009

73 Titular/es: **National Jewish Health
1400 Jackson Street
Denver, Colorado 80206, US
Aeolus Sciences, Inc. y
Duke University**

72 Inventor/es: **Crapo, J. D.;
Day, Brian, J.;
Batinic-Haberle, Ines;
Gammans, Richard y
Vujaskovic, Zeljko**

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 330 728 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

Medicamento para protección en radioterapia.

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere, en general, al uso de un compuesto mimético de un agente de barrido enzimático de especies con oxígeno reactivo (por ejemplo, compuestos miméticos de superóxido dismutasa (SOD)) como quimio- y/o radio- protector.

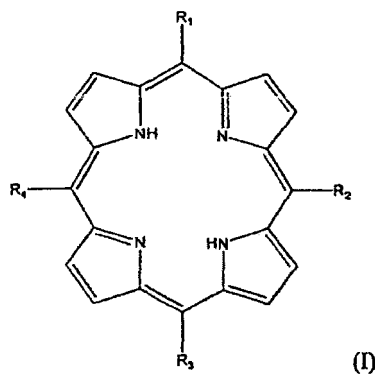
10 **Antecedentes**

Se producen oxidantes como parte del metabolismo normal de todas las células, pero también son un componente importante de las patogénesis de procesos de muchas enfermedades. Especies con oxígeno reactivo, por ejemplo, son elementos críticos de las patogénesis de enfermedades del pulmón, el sistema cardiovascular, el sistema gastrointestinal, el sistema nervioso central y el músculo-esquelético. Los radicales libres de oxígeno también desempeñan un papel en la modulación de los efectos del óxido nítrico (NO·). En este contexto, contribuyen a la patogénesis de trastornos vasculares, enfermedades inflamatorias y procesos de envejecimiento.

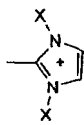
Se requiere un equilibrio crítico de enzimas defensivas frente a oxidantes para mantener una función normal de célula y órgano. Las superóxido dismutasas (SOD) son una familia de metaloenzimas que catalizan la conversión intra- y extra- celular de O₂· en H₂O₂ más O₂ y representan la primera línea de defensa frente a los efectos perjudiciales de radicales superóxido. Los mamíferos producen tres SOD distintas. Una es una enzima dímera que contiene cobre y cinc (CuZn SOD) que se encuentra en el citosol de todas las células. Una segunda es una SOD tetrámera que contiene manganeso (Mn SOD) que se encuentra dentro de mitocondrias, y la tercera es una enzima tetrámera, glicosilada, que contiene cobre y cinc (EC-SOD) que se encuentra en los fluidos extracelulares y que se une a la matriz extracelular. Se sabe que existen varias enzimas antioxidantes importantes más dentro de las células, que incluyen catalasa y glutatión peroxidasa. Aun cuando los fluidos extracelulares y la matriz extracelular contienen solamente pequeñas cantidades de estas enzimas, también se sabe que están presentes otros antioxidantes extracelulares, que incluyen agentes de barrido de radicales e inhibidores de peroxidación de lípidos, tales como ácido ascórbico, ácido úrico, y α-tocoferol (Halliwell y col., Arch. Biochem. Biophys. 280:1 (1990)).

Resumen de la invención

35 La presente invención se refiere a un compuesto mimético de un agente de barrido enzimático de especies con oxígeno reactivo para uso en la protección de tejido normal de un mamífero de los efectos tóxicos asociados con la radioterapia, teniendo dicho compuesto mimético la fórmula (I)



55 o sal farmacéuticamente aceptable o forma unida a metal de la misma en la que:



R₁, R₂, R₃ y R₄ son ,
 en la que las X son iguales o diferentes y son alquilo.

65 La invención se refiere además al uso de un compuesto mimético de un agente de barrido enzimático de especies con oxígeno reactivo de fórmula (I) anterior en la preparación de un medicamento para la protección de tejido normal de un mamífero de los efectos tóxicos asociados con la radioterapia.

ES 2 330 728 T3

La invención proporciona además un compuesto mimético de un agente de barrido enzimático de especies con oxígeno reactivo de fórmula (I) anterior para uso en el alivio de la lesión de tejido normal inducida por la radiación en un mamífero.

5 La invención se refiere además al uso de un compuesto mimético de un agente de barrido enzimático de especies con oxígeno reactivo de fórmula (I) anterior en la preparación de un medicamento para el alivio de la lesión de tejido normal inducida por la radiación en un mamífero.

Breve descripción de los dibujos

10 Las Figuras 1A y 1B muestran las estructuras de ciertas definiciones genéricas y específicas de compuestos miméticos adecuados para uso en la invención que incluyen compuestos 10123, 10150 y 10158. Con referencia a Fig. 1H, las actividades de SOD de algunos de los compuestos representados se muestran en la Tabla 1 (según se miden por el método de citocromo C):

15 TABLA 1

Compuesto	Actividad de SOD (U/mg)
10110	225
10113	10.648
10123	17.061
10143	14.038
10150	14.789
10153	23.467
10158	14.342
CuZn-SOD	2.220

35 Figura 2. Inhibición de crecimiento tumoral usando análisis de retraso de crecimiento tumoral en ratas Fisher 344 después de administración intraperitoneal de 6 mg/kg de tres compuestos diferentes.

40 Figura 3. Se trataron previamente los animales con diferentes compuestos miméticos de SOD (6 mg/kg i.p.) 24 horas antes de implantación de 2,5 mill./mg de células de adenocarcinoma mamario R3230 en cámaras-Z. Se observó inhibición significativa ($p < 0,01$) de desarrollo tumoral en animales tratados con compuestos 10113 (manganeso(III)-tetraquis(N-etilpiridinio-2-il)porfirina) y 10150 (manganeso(III)-tetraquis(N-dietilimidazolio-2,5-il)porfirina).

45 Figura 4. Antiangiogénesis: Se trataron previamente los animales con diferentes compuestos miméticos de SOD (6 mg/kg i.p.) 24 horas antes de implantación de 2,5 mill./mg de células de adenocarcinoma mamario R3230 en cámaras-Z. Se observó inhibición significativa de angiogénesis tumoral en animales tratados con compuesto 10113.

Figura 5. Distribución de puntuaciones de mucositis a lo largo del tiempo.

50 Figura 6. Efecto de compuesto mimético de SOD en el porcentaje de días con puntuaciones de mucositis ≥ 3 .

Descripción detallada de la invención

55 La presente invención se refiere al uso de compuestos miméticos particulares de agentes de barrido de especies con oxígeno reactivo como quimio- y/o radio- protectores.

60 Compuestos miméticos de agentes de barrido de especies con oxígeno reactivo apropiados para uso en la invención incluyen los que se definen en la reivindicación 1. La invención puede incluir el uso de porfinas tanto exentas de metal como unidas a metal. En el caso de porfinas unidas a metal, se prefieren derivadas mangánicas. Sin embargo, también se pueden usar metales distintos de manganeso tales como hierro (II y III), cobre (I y II), cobalto (II y III), o níquel (I y II). Se apreciará que el metal seleccionado puede tener diversos estados de valencia, por ejemplo, se puede usar manganeso II, III, IV o V. También se puede usar Zn (II) aun cuando no experimenta cambio de valencia y por lo tanto no barrerá superóxido directamente. La elección de metal puede afectar selectivamente a las especies con oxígeno que se someten a barrido. En la Figura 1 se muestran ejemplos de compuestos miméticos de este tipo y se describen en los documentos USP 5.994.339, USP 6.127.356 y USP 6.103.714 y en los N^{os} de solicitudes de patentes U.S. 09/184.982 y 09/880.124, 09/296.615, 09/490.537 y 09/880.075 (60/211.857). En estas patentes y solicitudes de patentes se describen procedimientos de síntesis apropiados.

ES 2 330 728 T3

Pueden ser tratados pacientes con cierto número de tipos de cáncer, que incluyen leucemias, mielomas, y tumores sólidos tales como melanomas, linfomas, sarcomas, y tumores de pulmón, mama, próstata y colon.

Los compuestos que se describen en este documento pueden ser usados solos o en combinación con otros agentes quimioterápicos, tales como bleomicina, cisplatino, adriamicina, y camptotecina. Los compuestos pueden tanto aumentar la eficacia de la terapia de radiación como servir para proteger tejido normal de los efectos del tratamiento de radiación. Los compuestos miméticos son útiles para reducir la toxicidad en tejido normal previniendo el daño (por ejemplo, inflamación) que resulta de la generación de radicales libres. Una amplia diversidad de tejidos normales puede ser protegida por medio del uso de compuestos miméticos de la presente invención, que incluyen tejido pulmonar, mucosas, tejido del tracto gastrointestinal, leucocitos, folículos pilosos, piel y médula ósea.

Los compuestos anteriormente descritos, formas unidas a metal y exentas de metal, se pueden formular en composiciones farmacéuticas. Composiciones de este tipo incluyen agente activo (compuesto mimético) junto con un vehículo, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable. La composición puede estar presente en forma farmacéutica unitaria, por ejemplo, pastillas, cápsulas o supositorios. La composición también puede estar en forma de una solución estéril adecuada para inyección (por ejemplo, subcutánea, i.p. o i.v.) o nebulización. Las composiciones también pueden estar en una forma adecuada para uso oftálmico. La invención también incluye composiciones formuladas para administración tópica, teniendo las composiciones de este tipo la forma, por ejemplo, de loción, crema, gel, o ungüento. La concentración de agente activo que se ha de incluir en la composición se puede seleccionar sobre la base de la naturaleza del agente, el régimen de dosificación y el resultado buscado. Los compuestos también pueden ser encapsulados en lisosomas y dirigidos de este modo para potenciar la liberación a tumores.

La dosificación de la composición que se ha de administrar se puede determinar sin experimentación indebida y dependerá de diversos factores que incluyen la naturaleza del agente activo (que incluye si está unido a metal o exento de metal), la ruta de administración, el paciente, y el resultado buscado que se ha de alcanzar. Una dosificación adecuada de compuesto mimético que se ha de administrar por vía i.v. o tópicamente se puede esperar que esté en el intervalo de aproximadamente 0,01 a 50 mg/kg/día, preferiblemente, 0,1 a 10 mg/kg/día, más preferiblemente 0,1 a 6 mg/kg/día. Para administración en aerosol, se espera que las dosis estarán en el intervalo de aproximadamente 0,001 a 5,0 mg/kg/día, preferiblemente, 0,01 a 1 mg/kg/día. Las dosis adecuadas variarán, por ejemplo, con el compuesto y con el resultado buscado.

Ciertos aspectos de la presente invención se describirán con mayor detalle en los Ejemplos no limitativos que siguen.

Ejemplo 1

Efecto de compuestos miméticos de SOD sobre crecimiento tumoral y angiogénesis

Detalles experimentales

Animales

Los experimentos se realizaron con ratas de Fisher-344 hembras. Todos los animales se alojaron a 4 por jaula y se mantuvieron bajo idénticas condiciones de laboratorio normalizadas durante las cuales se les suministró comida y agua *ad libitum*. Las ratas, que pesaban 150-170 g, fueron anestesiadas antes del trasplante de tumor o cámara mediante una inyección intraperitoneal de cetamina (67,5 mg/kg) y xilacina (4,5 mg/kg).

Tumor

Se trasplantó adenocarcinoma mamario R3230 AC a la pata trasera derecha. Cuando los tumores alcanzaron 0,8-1 cm de diámetro, las ratas se distribuyeron aleatoriamente en 4 grupos para recibir: 1) Solución salina (control); 2) Fármaco 10150 (de la invención); 3) Fármaco 10113 (comparativo); 4) Fármaco 10201 (comparativo). Los fármacos se dieron diariamente en dosis de 6 mg/g i.p. Se midió el tamaño del tumor dos veces por semana (Fig. 2).

Cámaras Z

Estas cámaras se construyen de anillos de plexiglás hechos a medida con diámetro interno de 10 mm y tienen un poro en el lateral. Las dos superficies abiertas se cubren mediante malla de nailon (tamaño de poro 180 micrómetros, Millipore, MA) y se pegan a los anillos. Se prepara fibrinógeno (fibrinógeno humano, empobrecido en plasminógeno, CalBiochem) en DMEM (Gibco BRL) y se utiliza una concentración de 4-5 mg/ml para los estudios. Aunque las ratas de Fisher usadas en el estudio están inmunitariamente sanas, se ha comprobado que este lote purificado de fibrinógeno se va a conservar muy bien a través de las líneas de especies. También se ha mostrado que la respuesta angiogénica temprana a fibrinógeno humano es muy similar a la de fibrinógeno de rata en cámaras de gel de fibrina. Los dos tipos de fibrinógeno diferentes también han sido probados en las cámaras Z y no se ha encontrado diferencia en respuesta angiogénica y cicatrizante. Se usó fibrinógeno humano.

Las cámaras Z de fibrina tienen solución de fibrinógeno que se vierte dentro de la cámara a través del poro seguida por 2 unidades de trombina. Para las cámaras Z tumorales, en primer lugar se recolectaron mediante procedimientos

normalizados células de carcinoma mamario de rata R3239 AC que habían crecido en cultivo tisular y el aglomerado resultante se lavó tres veces con DMEM. Se añadió solución de fibrinógeno al aglomerado para llegar a la concentración final de células de aproximadamente 2,5 millones de células/ml. Se añadió esta solución de células tumorales/fibrinógeno a las cámaras a través del poro y otra vez fue seguida por 2 unidades de trombina. Después de la adición de trombina, se dejó que la fibrina se gelificara dentro de las cámaras durante 15 minutos antes de implantación en animales. Se anestesiaron ratas de Fisher 344, se retiró el pelo usando maquinilla corta-pelo y se preparó la superficie quirúrgicamente. Se hicieron dos pequeñas incisiones en el dorso a lo largo de la línea media separadas entre sí aproximadamente 4 cm. Se diseccionó con decisión la fascia y se crearon pequeños bolsillos a ambos lados a lo largo de las incisiones de la línea media. Cuatro cámaras Z fueron implantadas con éxito en estos bolsillos por cada animal. Hay poca diferencia de respuesta (cantidad de granulación o tejido tumoral generado) entre las 4 cámaras/animal y entre las cámaras/animales en un grupo. Además, no se ha observado diferencia de respuesta si se implantan 1 ó 4 cámaras (cámaras Z de fibrina o tumor) por animal en estudios iniciales con este sistema de modelo.

Se recolectaron las cámaras Z el día 1 ó el 12 tras la operación quirúrgica. Se cortaron los tejidos de la cámara y se conservaron en formalina al 10% para incrustación en parafina. Para evaluación de las cámaras Z, se tomaron imágenes a 10X de las secciones de cada muestra teñida con hematoxilina y eosina. Se tomaron imágenes a la máxima profundidad de tejido observado en la sección. Se midió la profundidad tanto del tejido tumoral (crecimiento tumoral) como del tejido de granulación (cicatrización de herida) con calibres sobre la impresión de 10,2 x 15,2 centímetros. Con esta manera de medición, se ha dado intencionadamente un sesgo hacia el tejido tratado puesto que en muchas muestras tratadas el tejido nunca llena homogéneamente la cámara a esta profundidad. Todas las mediciones se hicieron en modo ciego. (Fig. 3).

Immunohistoquímica

Se llevaron a cabo técnicas de inmunohistoquímica usando procedimientos descritos por Hsu y col. (Hsu y col., Histochem. Cytochem. 29:577-580 (1981)). En resumen, se seccionaron tejidos incrustados en parafina (5 micrómetros) y se llevó a cabo la recuperación de antígenos usando tampón de citrato de Biogenex (San Ramon, CA). Se trataron tejidos con anticuerpo primario frente a transglutaminasa tisular (TG100, 1:10, marcador de células endoteliales, no reactivo al Factor XIIIa)(Neomarkers, CA) durante 1 hora a 37°C. Se incubaron anticuerpo secundario (Jackson ImmunoResearch, PA) y anticuerpos terciarios (Vector, CA) durante 25 minutos a 37°C y se visualizó la posición de la reacción con tetrahidrocloreto de 3,3'-diaminobencidina Sigma (St. Louis MO). Se sometieron portaobjetos a tinción de contraste con hematoxilina y se ajustaron con cubreobjetos. Se trataron controles para la inmunohistoquímica con IgG de ratón en lugar de anticuerpo primario y fueron negativas en cualquier reactividad. Se llevaron a cabo Hematoxilina & Eosina y tricromo de Masson (MT) según se describe por Sheehan (Sheehan y col., en: Theory and Practice of Histotechnology, Battelle Press, Columbus, OH (1980)) para evaluar colágeno (color verde) sobre las secciones de cámara Z de fibrina. Se calculó densidad de microvasos según se describe por Weidner y col. (Weidner y col., J. New Engl. J. Med. 324:1-8(1991)). En resumen, se seleccionaron seis puntos o áreas calientes con los vasos más densos marcados por el marcador de vasos en un campo de alta potencia (400X) por sección de muestra y se contó el número de vasos sanguíneos. A continuación se agruparon los datos para los tejidos de control y tratados para llegar a los valores medios de cada grupo. Todas las mediciones se hicieron por dos patólogos independientes en modo ciego. (Fig. 4).

Ejemplo 2

El efecto de un compuesto mimético de SOD sobre la incidencia y curso de mucositis oral inducida por radiación aguda en hámsteres

La mucositis ulcerativa oral es una toxicidad común, dolorosa, que limita la dosis de la terapia de fármacos y radiación contra el cáncer. El trastorno se caracteriza por rotura de la mucosa oral que da como resultado la formación de lesiones ulcerosas. En pacientes granulocitopénicos, las ulceraciones que acompañan a la mucositis son portales de entrada frecuentes para bacterias orales locales autóctonas que conducen a menudo a sepsis o bacteremia. Se produce mucositis en alguna medida en más de un tercio de los pacientes que reciben terapia de fármaco antineoplástico. La frecuencia y severidad son significativamente mayores entre pacientes que son tratados con terapia de inducción para leucemia o con muchos de los regímenes de acondicionamiento para trasplante de médula ósea. Entre estos individuos, no es inhabitual mucositis moderada a severa en más de tres cuartos de los pacientes. Se produce mucositis moderada a severa casi en todos los pacientes que reciben terapia de radiación para tumores de la cabeza y el cuello y típicamente comienza con exposiciones acumulativas de 15 Gy y luego empeora cuando se alcanzan dosis totales de 60 Gy o más.

La mucositis progresa clínicamente a través de tres niveles:

Inflamación acompañada de eritema doloroso de la mucosa, que puede responder a anestésico locales.

Ulceración dolorosa con formación de pseudomembrana y, en el caso de tratamiento mielosupresor, sepsis con peligro de muerte, que requiere terapia antimicrobiana. El dolor es a menudo de tal intensidad que requiere analgesia narcótica parenteral.

Cicatrización espontánea, que se produce 2-3 semanas después del cese de la terapia antineoplástica.

ES 2 330 728 T3

La terapia estándar para mucositis es predominantemente paliativa, incluyendo aplicación de analgésicos tópicos tales como lidocaína y/o administración sistémica de narcóticos y antibióticos. Actualmente, no hay tratamiento aprobado para mucositis.

5 La complejidad de la mucositis como proceso biológico solamente se ha apreciado recientemente. Se ha sugerido que la dolencia representa una interacción secuencial de células y tejidos de la mucosa oral, citoquinas pro-inflamatorias y factores locales tales como saliva y la microbiota oral. Aun cuando la degeneración epitelial y la rotura dan como resultado finalmente la ulceración mucosa, parece que los cambios tempranos asociados con la toxicidad en la mucosa inducida por radiación se producen dentro del endotelio y tejido conjuntivo de la submucosa. La evaluación
10 mediante microscopio electrónico de la mucosa dentro de 1 semana de radiación muestra daños tanto al endotelio como al tejido conjuntivo, pero no al epitelio. Este tipo de lesión está probablemente intermediada por formación de radicales libres. Parece que el mecanismo global para el desarrollo de mucositis es similar para ambas, radiación y quimioterapia. (Eldor y col., Semin. Thromb. Hemost. 15:215-225 (1989)).

15 La implicación de especies reactivas en la iniciación de mucositis oral hace razonable plantear la hipótesis de que los antioxidantes pueden ser eficaces para prevenir o aliviar los síntomas de esta consecuencia adversa de la terapia de cáncer. En realidad, existe bibliografía que sugiere que se pueden usar eficazmente antioxidantes para tratar mucositis oral. Son coherentes con estos descubrimientos numerosos estudios que muestran atenuación del daño en la piel inducido por radiación o carcinogénesis intermediada por oxidantes mediante ciertos antioxidantes. (Plevova,
20 Oral Oncol 35:453-470 (1999)).

Los estudios que investigan el uso de antioxidantes en mucositis oral están justificados, como tales, particularmente a la luz de la ausencia de tratamientos estándar eficaces coherentemente. Sin embargo, los antioxidantes probados hasta ahora tienen agentes de barrido no específicos de especies reactivas. No se han examinado antioxidantes catalíticos ni se ha propuesto que tengan efecto en el curso de mucositis inducida por terapia de cáncer.

El objetivo del estudio que se describe a continuación fue evaluar el efecto de dos dosis de un antioxidante catalítico propio, administrado tópicamente y mediante inyección, sobre la frecuencia, severidad y duración de la mucositis oral inducida por radiación aguda.

30 *Detalles experimentales*

Se dio a cuarenta hámsteres una dosis de radiación aguda dirigida a su mucosa oral. Se aplicarán materiales de prueba por inyección o tópicamente (tres veces al día) comenzando el día antes de la radiación y continuando hasta el
35 día 20. Se evaluaron las mucositis en días alternos comenzando el día 6 (día de radiación = día 0) y continuando hasta la conclusión del experimento el día 28.

Se usaron cuarenta hámsteres (40). Los hámsteres se distribuyeron aleatoriamente en cinco (5) grupos de ocho (8) animales cada uno. Se asignó a cada grupo un tratamiento diferente de 0,2 ml tid (tres veces al día) como sigue:

40	Grupo 1	Agua o control de PBS	día-1 a día 20
45	Grupo 2	10150, 0,25 mg/ml, tid, tópico (1,5 mg/kg/día)	día-1 a día 20
50	Grupo 3	10150, 1 mg/ml, tid, tópico (6 mg/kg/día)	día-1 a día 20
55	Grupo 4	10150, 0,25 mg/ml, tid, ip (1,5 mg/kg/día)	día-1 a día 20
60	Grupo 5	10150, 1 mg/ml, tid, ip (6 mg/kg/día)	día-1 a día 20

65

ES 2 330 728 T3

Puntuación de mucositis

Los parámetros medidos incluyeron la puntuación de mucositis, cambio de peso y supervivencia. Para la evaluación de mucositis, los animales fueron anestesiados con anestésicos de inhalación (fenobarbital o halotano), y la bolsa izquierda fue vuelta hacia afuera. Se puntuó mucositis tanto clínicamente durante la porción de estudio de laboratorio como de manera en ciego (a la conclusión del estudio). La puntuación clínica se realizó mediante comparación visual con una escala fotográfica validada, que oscila desde 0 para normal, hasta 5 para ulceración severa.

En términos descriptivos, esta escala se define como sigue:

Puntuación: Descripción:

0	Bolsa completamente sana. Sin eritema ni vasodilatación
1	Eritema y vasodilatación ligeros a severos. Sin erosión de mucosa
2	Eritema y vasodilatación severos. Erosión de aspectos superficiales de mucosa que dejan áreas desnudas. Descenso del punteado de mucosa.
3	Formación de úlceras color hueso en uno o más lugares. Las úlceras pueden tener un color amarillo/gris debido a pseudomembrana. El tamaño acumulado de las úlceras debería ser igual a aproximadamente $\frac{1}{4}$ de la bolsa. Eritema y vasodilatación severos.
4	El tamaño acumulado de las úlceras debería ser igual a aproximadamente $\frac{1}{2}$ de la bolsa. Pérdida de capacidad de plegado. Eritema y vasodilatación severos.
5	Casi toda la bolsa está ulcerada. Pérdida de capacidad de plegado (la bolsa solamente se puede extraer parcialmente de la boca).

Se considera que una puntuación de 1-2 representa un nivel suave de la enfermedad, mientras que una puntuación de 3-5 se considera que indica mucositis moderada a severa.

Resultados

10150 administrado por vía ip (0,2 ml de solución de 0,25 mg/ml, tid, 1,5 mg/kg/día) redujo significativamente la incidencia de mucositis severa según se pone en evidencia por la reducción de un 59% del porcentaje de días con puntuaciones de mucositis ≥ 3 según se muestra en la Tabla 3. Se observó una disminución similar en el grupo ip de dosis más alta, pero no en ningún otro grupo tratado mediante dosificación tópica a estas concentraciones.

Grupo	Días ≥ 3	Días < 3	Total días	% Días ≥ 3	Chi Cuad. y control	Valor P
Control	88	104	192	45,8	-	-
AO dosis baja tópica	83	99	182	45,6	0,004	0,953
AO dosis alta tópica	73	119	192	38,0	2,096	0,148
AO dosis baja ip	36	156	192	18,8	30,980	<0,001
AO dosis alta ip	60	132	192	31,3	8,015	0,005

Análisis de chi cuadrado del número total de días que pasaron los animales de cada grupo con una puntuación de 3 ó más. Este estadístico es una medida de la severidad de la ulceración, un resultado importante clínicamente. Las eficacias significativas se indican en negrita.

ES 2 330 728 T3

Estudios repetidos dieron los resultados que se exponen en la Tabla 4.

TABLA 4

Resumen de descubrimientos de mucositis con 10150

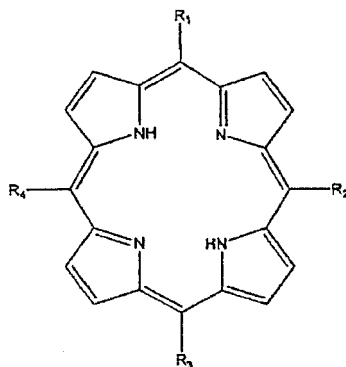
Estudio	Dosis	N	Ruta	Porcent.	
				Días>3	Valor P
INC-01	Control	8		45,8	
	0,25 mg/ml	8	ip	18,8	0,001
	1 mg/ml	8	ip	31,3	0,005
	0,25 mg/ml	8	Tópica	45,6	0,953
	1 mg/ml	8	Tópica	38	0,148
INC-02	Control	8		43,3	
	0,25 mg/ml	8	ip	28,6	0,04
	1,5 mg/ml	8	ip	27,6	0,02
	1,5 mg/ml	8	Tópica	37,5	0,298
	5 mg/ml	8	Tópica	27,6	0,002
INC-03	Control	7		33,3	
	1 mg/ml	7	ip	38,1	0,113
INC-04	Control	7		43,9	
	0,25 mg/ml	7	ip	47,3	0,485
INC-05	Control	8		68,8	
	0,25 mg/ml	8	ip	42,1	0,001
	1,5 mg/ml	8	ip	33,3	0,001

Fig. 5 ilustra la distribución de puntuaciones a lo largo del tiempo en el experimento. Con estos datos parece que el efecto de 10150 se produce en la iniciación de la mucositis, reduciendo la incidencia de úlceras en el momento pico, aproximadamente el día 14. Fig. 6 expone el efecto de 10150 sobre el porcentaje de días con puntuaciones ≥ 3 (esto es mucositis severa).

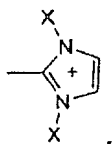
Estos descubrimientos indicaron que 10150 reduce notablemente la severidad de la mucositis asociada con la terapia de radiación según se usa en la terapia del cáncer. Este efecto tuvo la mayor evidencia en grupos tratados con administración ip. Sin embargo, como se puede ver en la Fig. 6, aunque no significativo estadísticamente, el tratamiento tópico de dosis alta tendía a reducir también la severidad de la mucositis, sugiriendo que concentraciones más altas usadas tópicamente, con concentraciones tisulares más altas correspondientemente, podrían dar como resultado efectos similares a los que se ven con administración ip.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto mimético de un agente de barrido enzimático de especies con oxígeno reactivo para uso en la protección de tejido normal de un mamífero de los efectos tóxicos asociados con la radioterapia, teniendo dicho compuesto mimético la fórmula



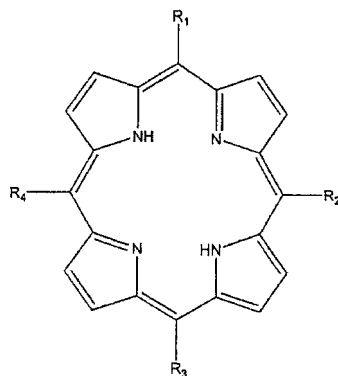
o sal farmacéuticamente aceptable o forma de la misma unida a metal en la que:



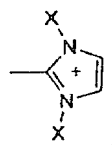
R₁, R₂, R₃ y R₄ son

en la que las X son iguales o diferentes y son alquilo.

2. Uso de un compuesto mimético de un agente de barrido enzimático de especies con oxígeno reactivo en la preparación de un medicamento para la protección de tejido normal de un mamífero de los efectos tóxicos asociados con la radioterapia, teniendo dicho compuesto mimético la fórmula



o sal farmacéuticamente aceptable o forma de la misma unida a metal en la que:

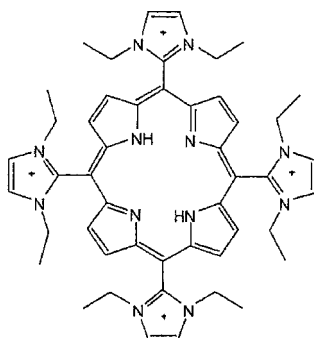


R₁, R₂, R₃ y R₄ son

en la que las X son iguales o diferentes y son alquilo.

ES 2 330 728 T3

3. El compuesto mimético o uso según la reivindicación 1 ó 2, en el que dicho compuesto mimético tiene la fórmula

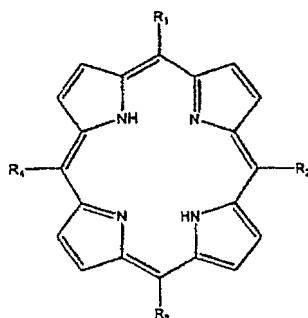


4. El compuesto mimético o uso según la reivindicación 3, en el que dicho compuesto mimético está unido a un metal.

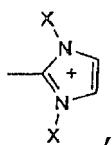
5. El compuesto mimético o uso según la reivindicación 4, en el que el metal se elige entre manganeso, hierro, cobalto, cobre, níquel y cinc.

6. El compuesto mimético o uso según la reivindicación 5, en el que el metal es manganeso.

7. Un compuesto mimético de un agente de barrido enzimático de especies con oxígeno reactivo para uso en el alivio de la lesión de tejido normal inducida por radiación en un mamífero, teniendo dicho compuesto mimético la fórmula



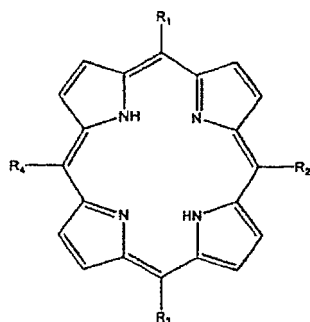
o sal farmacéuticamente aceptable o forma de la misma unida a metal en la que:



R₁, R₂, R₃ y R₄ son

en la que las X son iguales o diferentes y son alquilo.

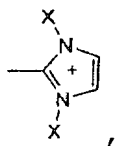
8. Uso de un compuesto mimético de un agente de barrido enzimático de especies con oxígeno reactivo en la preparación de un medicamento para alivio de la lesión de tejido normal inducida por radiación en un mamífero, teniendo dicho compuesto mimético la fórmula



ES 2 330 728 T3

o sal farmacéuticamente aceptable o forma de la misma unida a metal en la que:

5



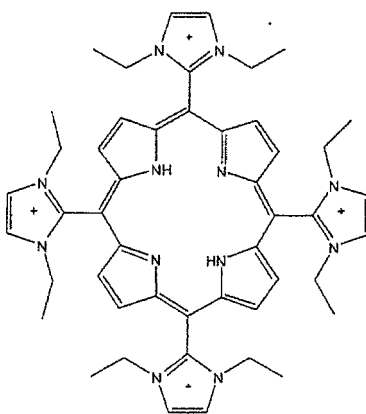
R₁, R₂, R₃ y R₄ son

10

en la que las X son iguales o diferentes y son alquilo.

9. El compuesto mimético o uso según la reivindicación 7 u 8, en el que dicho compuesto mimético tiene la fórmula

15



20

25

30

10. El compuesto mimético o uso según la reivindicación 7 u 8, en el que dicho compuesto mimético está unido a un metal.

35

11. El compuesto mimético o uso según la reivindicación 10, en el que dicho metal se elige entre manganeso, hierro, cobalto, cobre, níquel y cinc.

12. El compuesto mimético o uso según la reivindicación 11, en el que el metal es manganeso.

40

45

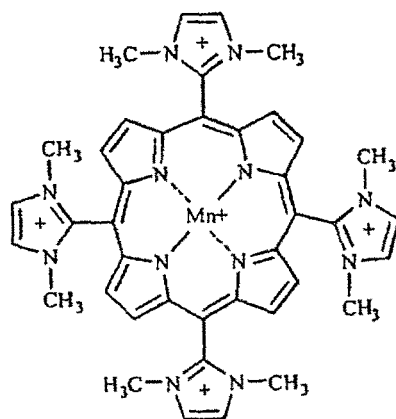
50

55

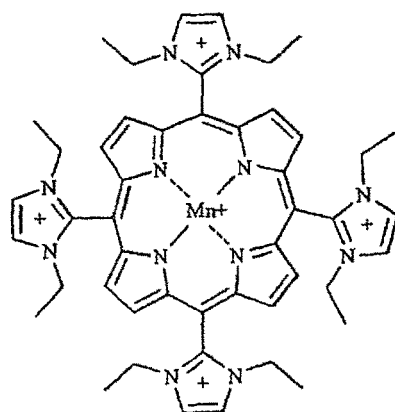
60

65

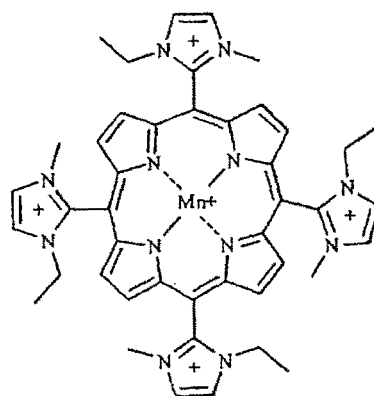
FIGURA 1A



10123
MnTDM-2,5-IP

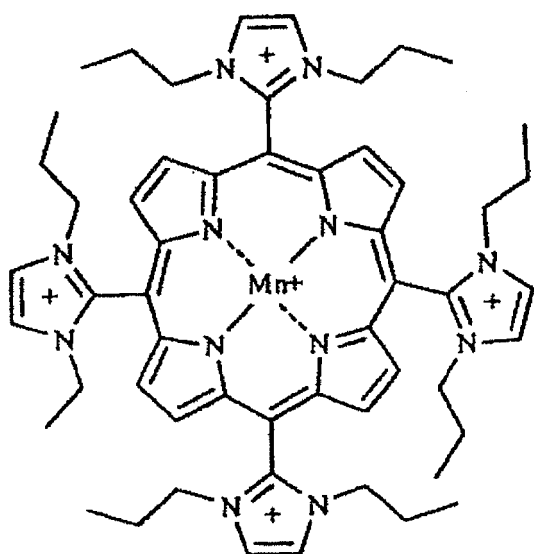


10150
MnTDE-2,5-IP



10151

FIGURA 1B



10158
MnTDP-2,5-IP

Figura 2
Inhibición de crecimiento tumoral
Adenocarcinoma mamario R3230 AC en ratas de Fisher

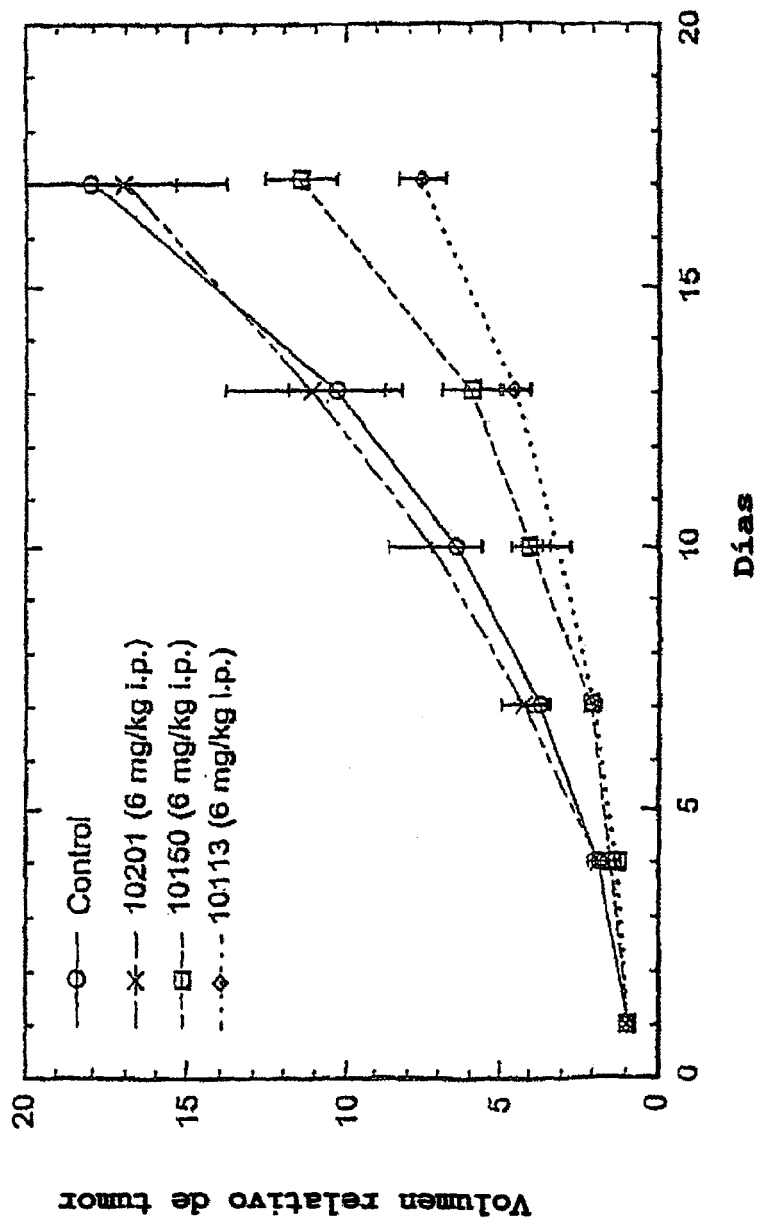


Figura 3
Inhibición de crecimiento tumoral (cámaras s.q.)
Dosis = 6 mg/kg

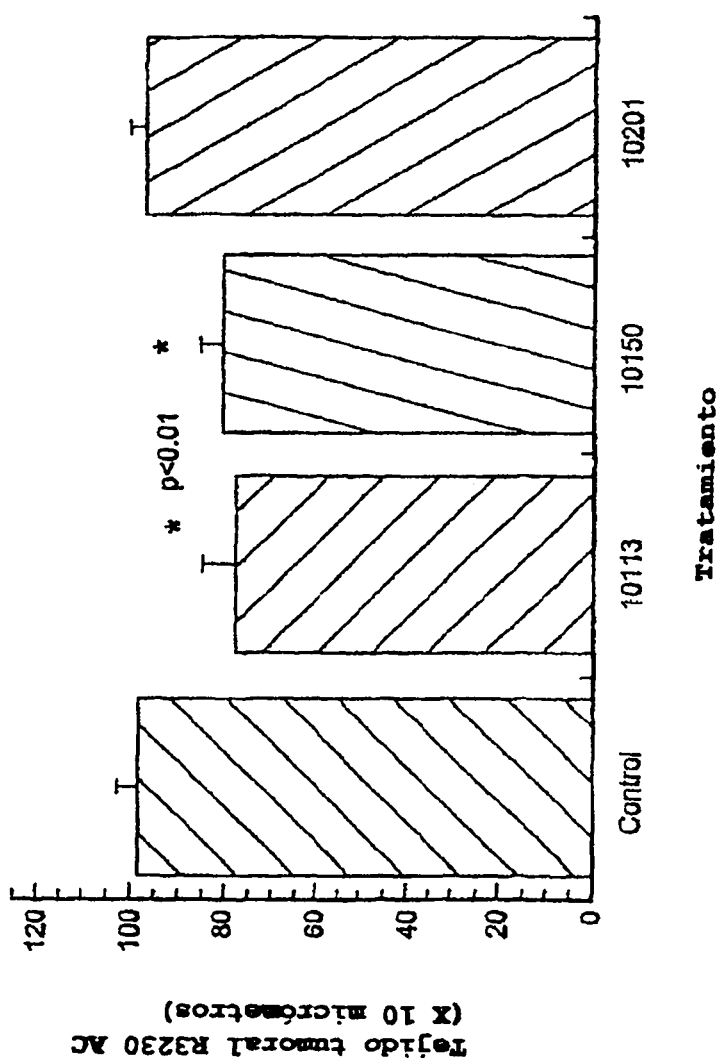


Figura 4
Angiogénesis tumoral
Dosis = 6 mg/kg

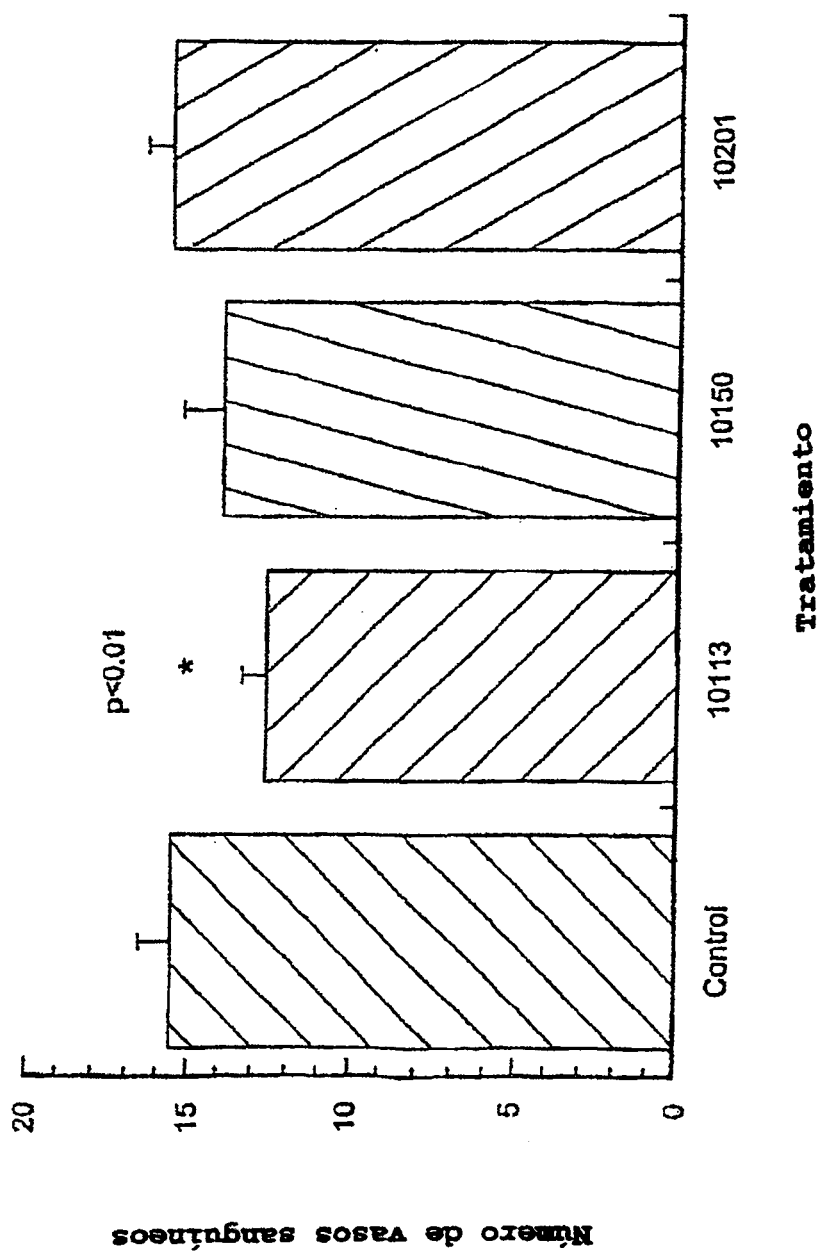


Figura 5
Puntuaciones de mucositis en ciego INC-01

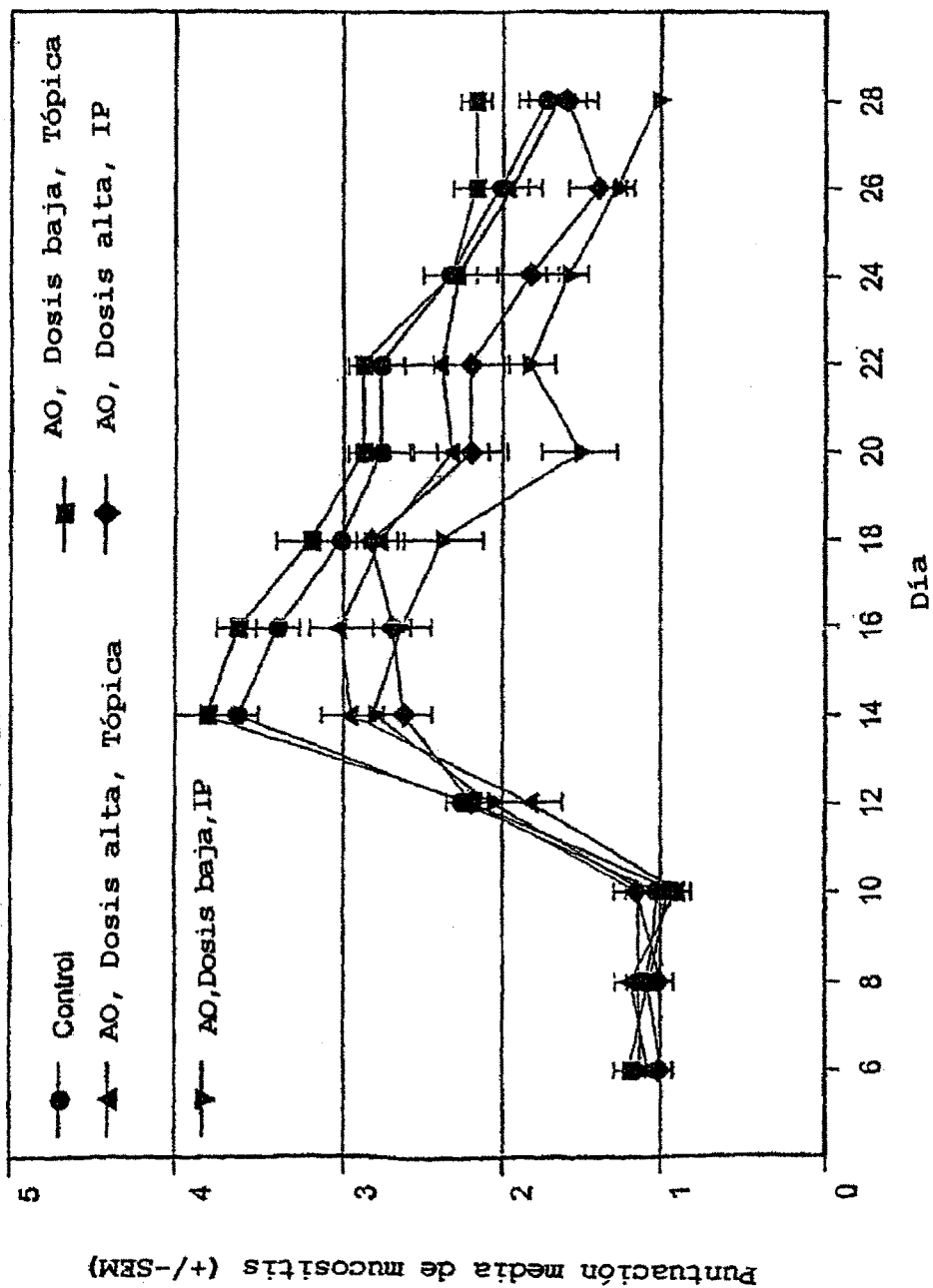


Figura 6
Porcentaje de días de estudio con ulceración según se indica por una puntuación de 3 ó mayor

