



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 363 914**

51 Int. Cl.:
A61K 31/417 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03783726 .7**
96 Fecha de presentación : **21.11.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1567138**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **31.08.2005**

54 Título: **Utilización de un derivado de diamida para inhibir el rechazo crónico de un transplante.**

30 Prioridad: **21.11.2002 US 428332 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
19.08.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
19.08.2011

73 Titular/es: **GENZYME CORPORATION**
500 Kendall Street
Cambridge, Massachusetts 02142, US

72 Inventor/es: **Williams, John, M.**

74 Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

ES 2 363 914 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

Utilización de un derivado de diamida para inhibir el rechazo crónico de un trasplante

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

[0001] Han habido mejoras en el manejo del rechazo agudo de trasplantes en los últimos treinta años como se ve en la mayor supervivencia de los trasplantes durante el primer año siguiente al procedimiento. Sin embargo, la vida media para la supervivencia a largo plazo de los órganos no ha mejorado y solo aproximadamente 50% de los trasplantes son funcionales a los diez años. El rechazo crónico de trasplantes, por oposición al rechazo agudo de trasplantes, es la causa de la mayoría de los fracasos en los trasplantes.

[0002] El rechazo agudo de trasplantes se produce como resultado de que el sistema inmunitario del receptor del trasplante ataca al tejido trasplantado. El rechazo agudo es rápido, generalmente se produce entre unas horas y algunas semanas después del trasplante del tejido y puede ser suprimido habitualmente con el uso de fármacos inmunosupresores como la ciclosporina A. En tanto el rechazo agudo se suprime con protocolos inmunosupresores, el tratamiento para el rechazo crónico no está tan bien definido. El rechazo agudo y el rechazo crónico tienen características significativamente diferentes como las respuestas inmunitarias. Por ejemplo el rechazo crónico se produce con el paso del tiempo, generalmente varios meses a años después del injerto, incluso en presencia de una inmunosupresión exitosa. Implica múltiples factores y procesos del huésped y es generalmente resultado de un proceso prolongado de cicatrización que el receptor experimenta luego del trasplante. Por consiguiente, el rechazo crónico no tiene un origen totalmente inmunológico y las otras causas no se comprenden completamente. Estas causas pueden incluir lesiones isquémicas, deservación del tejido trasplantado, hiperlipidemia e hipertensión asociadas con fármacos inmunosupresores.

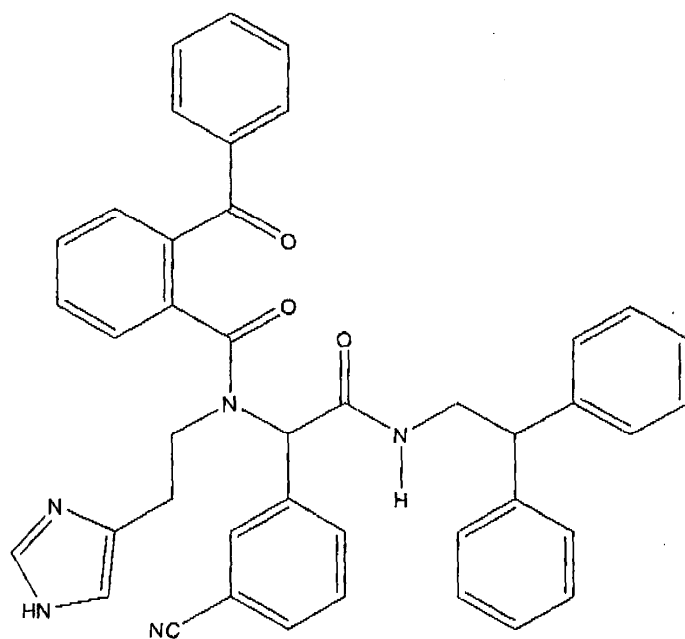
[0003] Para la mayoría de los órganos, la manera más definitiva de demostrar que se está produciendo rechazo es mediante biopsia del órgano. Por razones prácticas, sin embargo, no siempre se realizan las biopsias y son particularmente menos prácticas cuando se sospecha rechazo crónico. El rechazo crónico de un órgano trasplantado se caracteriza generalmente como una insuficiencia del órgano luego de haber comenzado a realizar su función en el receptor o huésped. Por lo tanto, el rechazo crónico se controla comúnmente mediante la disminución de la función del órgano la cual, si no se detiene, provoca una insuficiencia del órgano, infección y necrosis del tejido del órgano. El rechazo crónico se identifica, habitualmente demasiado tarde para un tratamiento que pueda salvar el trasplante, por la fibrosis patógena, que se caracteriza por una gran sedimentación de las proteínas de la matriz extracelular: colágeno, fibronectina y elastina, y por aparición de células con el fenotipo de miofibroblastos. La fibrosis se torna una característica delatadora del rechazo crónico donde se observa que la fibrogénesis daña las microestructuras del órgano o bloquea pasajes que es necesario que permanezcan abiertos para la función del órgano.

[0004] Turner et al, Transplantation (1995) Vol 60, N° 10, 1113-1117 describen que los niveles plasmáticos TNF- α se elevan durante los episodios de rechazo agudo de injerto en el trasplante de corazón, riñón e hígado e identifican un marcador genético de elevada producción de TNF- α en los receptores de trasplantes cardíacos.

[0005] El proceso de rechazo crónico no es inhibido por ningún régimen terapéutico conocido hasta el momento. Además, como se indicó antes, a veces dificulta la detección y el tratamiento en un límite de tiempo que salvaría al trasplante. Por consiguiente, otras mejoras en la supervivencia a largo plazo de pacientes con trasplante de órganos dependen del desarrollo de nuevas técnicas de manejo del rechazo crónico de trasplantes.

RESUMEN DE LA INVENCION

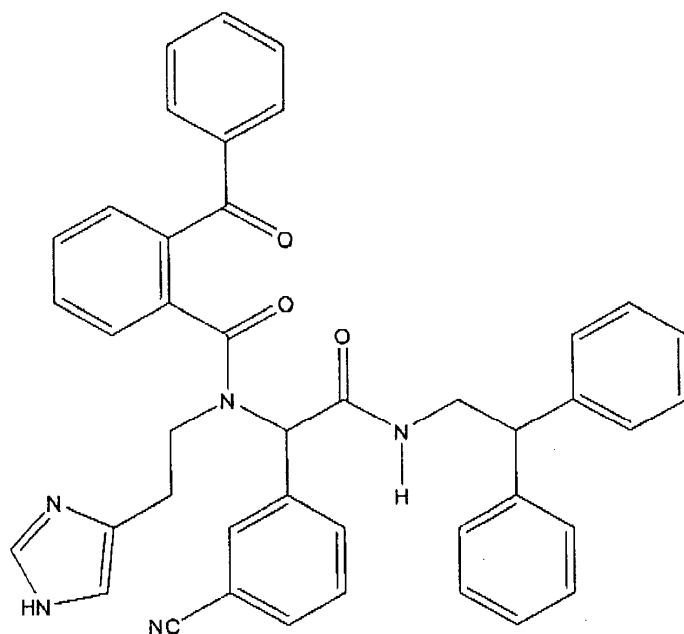
[0006] En la actualidad se ha descubierto un nuevo compuesto que es eficaz para inhibir el rechazo crónico de trasplante y se da a conocer en este documento. En un ejemplo, se inhibió la evidencia histopatológica del rechazo crónico mediante el compuesto 1 que se muestra a continuación, en dos modelos de ratón. En este primer modelo, se inhibió el rechazo crónico de corazones trasplantados en ratones receptores totalmente incompatibles en el MHC clase II, a las ocho semanas de la intervención quirúrgica mediante tratamiento solo con 75 mg/kg/día de



compuesto 1

compuesto 1 durante las dos semanas siguientes a la intervención quirúrgica. En el segundo modelo, se inhibió el rechazo crónico de corazones trasplantados en ratones receptores totalmente incompatibles en el MHC clase II, a los 120 días de la intervención quirúrgica cuando se combinó el tratamiento de 75 mg/kg/día de compuesto 1 durante las dos semanas siguientes a la intervención quirúrgica con una única administración de 250 µg de anticuerpo monoclonal anti-CD154 inmediatamente después de la cirugía de trasplante. El tratamiento solo con anticuerpo monoclonal anti-CD154, suprime el rechazo agudo pero es ineficaz para evitar el rechazo crónico del tejido trasplantado. Basándose en estos resultados, en este documento se dan a conocer medios para tratar el rechazo crónico de trasplantes.

- 10 **[0007]** Por consiguiente, de conformidad con la presente invención, se estipula el uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula estructural siguiente:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para la fabricación de un medicamento que inhiba el rechazo crónico de un tejido u órgano trasplantado en un ser humano, donde el órgano o el tejido trasplantado es corazón, riñón, pulmón, hígado, páncreas, islotes pancreáticos, tejido cerebral, estómago, intestino grueso, intestino delgado, córnea, piel, tráquea, músculo o vejiga, o parte del corazón, el riñón, el pulmón, el hígado, el páncreas, los islotes pancreáticos, el tejido cerebral, el estómago, el intestino grueso, el intestino delgado, la córnea, la piel, la tráquea, el músculo o la vejiga.

[0008] También describimos que el compuesto es eficaz tanto contra el rechazo agudo como el rechazo crónico de tejido trasplantado, pero es particularmente ventajoso en la inhibición del rechazo crónico del trasplante.

[0009] El compuesto dado a conocer se usa ventajosamente para tratar el rechazo crónico de tejido trasplantado, una afección para la cual hasta ahora no se disponía de tratamientos eficaces, asimismo describimos que, además, el rechazo agudo de tejido trasplantado también puede ser inhibido con el compuesto dado a conocer.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

[0010]

La figura 1 es una gráfica que muestra la inhibición de la vasculopatía crónica en corazones trasplantados en un modelo que consta únicamente de ratones incompatibles en el MHC clase II, a las ocho semanas del trasplante cardíaco. La gráfica compara la inhibición de la vasculopatía crónica en un grupo de ratones tratados con 75 mg/kg de compuesto 1 por vía subcutánea durante catorce días después de la cirugía de trasplante cardíaco con un grupo de control sin tratar. Los puntajes que se muestran en la gráfica varían entre cero y cinco para indicar la gravedad de la arteriosclerosis acelerada por rechazo crónico, siendo cero un vaso sanguíneo normal y cinco un vaso sanguíneo totalmente ocluido.

La figura 2 es una gráfica que muestra la inhibición de la vasculopatía crónica en corazones trasplantados en un modelo que consta únicamente de ratones totalmente incompatibles más de 100 días después del trasplante cardíaco. La gráfica compara la inhibición de la vasculopatía crónica en un grupo de ratones tratados con una única dosis de 250 μ m de anticuerpo monoclonal anti-CD154 inmediatamente después de la cirugía de trasplante cardíaco con un grupo de ratones tratados con una única dosis 250 μ m de anti-CD154 inmediatamente después de la cirugía de trasplante cardíaco y 75 mg/kg de compuesto 1 por vía subcutánea durante los catorce días siguientes a la cirugía de trasplante cardíaco. Los puntajes que se muestran en la gráfica varían entre cero y cinco para indicar la gravedad de la arteriosclerosis acelerada por rechazo crónico, siendo cero un vaso sanguíneo normal y cinco un vaso sanguíneo totalmente ocluido.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

[0011] En este documento se da a conocer un compuesto 1 para usar en un método de tratamiento (prevención, inhibición o supresión) del rechazo de tejido trasplantado en un sujeto receptor. El compuesto es particularmente eficaz para tratar (prevenir, inhibir o suprimir) el rechazo crónico de trasplantes. Asimismo describimos que el compuesto dado a conocer también se puede usar para tratar (prevenir, inhibir o suprimir) el rechazo agudo de trasplantes.

[0012] "Rechazo agudo de trasplantes" es el rechazo por el sistema inmunitario de un receptor de trasplante de tejido cuando el tejido trasplantado es inmunológicamente extraño. El rechazo agudo se caracteriza por infiltración del tejido trasplantado por células inmunitarias del receptor, las que llevan a cabo su función efectora y destruyen el tejido trasplantado. El inicio del rechazo agudo es rápido y generalmente se produce en los humanos en las primeras semanas siguientes a la cirugía de trasplante. Generalmente, el rechazo agudo se puede inhibir o suprimir con fármacos inmunosupresores como rapamicina, ciclosporina A, anticuerpo monoclonal anti-CD40L y análogos.

[0013] El "rechazo crónico de trasplantes" se produce generalmente en los humanos entre varios meses y años después del injerto, incluso en presencia de una inmunosupresión exitosa del rechazo agudo. La fibrosis es un factor común en el rechazo crónico de todos los tipos de trasplantes de órganos. El rechazo crónico se puede describir típicamente por una serie de trastornos específicos que son característicos del órgano particular. Por ejemplo, en los trasplante de pulmón, dichos trastornos incluyen destrucción fibroproliferativa de las vías respiratorias (bronquiolitis obliterante); en trasplantes cardíacos o trasplantes de tejido cardíaco, como reemplazos de válvulas, dichos trastornos comprenden la arteriosclerosis fibrótica; en trasplantes de riñón, dichos trastornos comprenden, nefropatía obstructiva, nefroesclerosis, nefropatía túbulointersticial; y en trasplantes de hígado, dichos trastornos incluyen el síndrome de desaparición de los conductos biliares. El rechazo crónico también se puede caracterizar por lesión isquémica, desnervación del [0014] tejido trasplantado, hiperlipidemia e hipertensión asociada con fármacos inmunosupresores.

[0015] La expresión "rechazo del trasplante" abarca tanto el rechazo agudo como crónico del trasplante.

[0016] Como se describió antes, el compuesto dado a conocer puede ser usado favorablemente para inhibir o suprimir el rechazo de trasplantes, en particular el rechazo crónico, en un ser humano con un órgano o tejido

trasplantado. El tipo más común de trasplante es un aloinjerto, que es un injerto entre integrantes de la misma especie.

[0017] Una opción, es que el tejido u órgano trasplantado sea producido por ingeniería genética, por ejemplo, cuando el tejido u órgano trasplantado se multiplica a partir de una célula madre u otro tipo de célula o células precursoras. Los tejidos u órganos producidos por ingeniería genética se pueden multiplicar fuera del organismo y trasplantar directamente en el huésped. Alternativamente, se trasplantan en el huésped células precursoras u órganos o tejidos inmaduros para que se multipliquen y maduren en él.

[0018] El compuesto dado a conocer también se puede usar para tratar el rechazo de trasplantes cuando el órgano o tejido trasplantado es un xenoinjerto, es decir, el donante es un integrante de una especie diferente a la del receptor. Los xenoinjertos se usan ventajosamente con un tejido u órgano producido por ingeniería genética, el cual, en vez de ser trasplantado directamente en el receptor que necesita el tejido o el órgano, puede ser trasplantado en un huésped sustituto como un mamífero no humano hasta que se identifique un receptor humano adecuado que necesite dicho tejido u órgano producido por ingeniería genética. Alternativamente, el tejido u órgano puede ser trasplantado en un sustituto para permitir que dicho órgano o tejido producido por ingeniería genética madure. Se puede preferir el uso de huéspedes sustitutos en casos en que es necesario el desarrollo posterior del tejido u órgano antes del trasplante en un receptor humano. Otra opción, es que el xenoinjerto se use cuando no se dispone de un donante de aloinjerto adecuado. Cuando se hace un trasplante en una especie diferente, es deseable seleccionar al huésped de modo que el tamaño de los órganos del huésped y el donante sean similares. Además, el huésped se debe seleccionar de modo de reducir al mínimo la transmisión de enfermedades.

[0019] Por otra parte, se pueden usar en los métodos divulgados las sales farmacéuticamente aceptables del compuesto dado a conocer. Por ejemplo, se puede obtener una sal ácida de un compuesto que contenga una amina u otro grupo básico, haciendo reaccionar el compuesto con un ácido inorgánico u orgánico adecuado, como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido acético, ácido perclórico y análogos. Los compuestos con un grupo moño cuaternario también contienen un contranión como cloruro, bromuro, yoduro, acetato, perclorato y análogos. Otros ejemplos de dichas sales comprenden clorhidratos, bromhidratos, sulfatos, metanosulfonatos, nitratos, maleatos, acetatos, citratos, fumaratos, tartratos [por ejemplo (+)-tartratos, (-)-tartratos y sus mezclas incluidas las mezclas racémicas], succinatos, benzoatos y sales con aminoácidos como ácido glutámico.

[0020] Una "cantidad eficaz" de compuesto 1 conforme con la presente invención es la cantidad que, cuando se administra a un receptor de un trasplante, inhibe o suprime el rechazo del trasplante, es decir, retarda el inicio y/o reduce la gravedad de uno o más de los síntomas asociados con el rechazo crónico del trasplante. La cantidad de compuesto dado a conocer que se debe administrar al receptor de un trasplante dependerá del tipo de trasplante, las características del sujeto, como su estado general de salud, edad, género, peso corporal y tolerancia a los fármacos. Los expertos serán capaces de determinar las dosis adecuadas dependiendo de estos y otros factores. Las cantidades eficaces de los compuestos dados a conocer varían típicamente entre aproximadamente 0.01 mg/kg por día y aproximadamente 100 mg/kg por día, y preferentemente entre 0.1 mg/kg por día y aproximadamente 10 mg/kg/día.

[0021] Un "sujeto" es un ser humano, que recibió un trasplante de tejido y necesita tratamiento para inhibir el rechazo del trasplante, y en particular el rechazo crónico del trasplante.

[0022] El uso del compuesto dado a conocer para inhibir el rechazo crónico del trasplante no está limitado a ningún tipo particular de órgano o tejido. El tratamiento dado a conocer es eficaz, pero no se limita a, inhibir el rechazo del corazón, el riñón, el pulmón, el hígado, el páncreas, los islotes pancreáticos, el tejido cerebral, el estómago, el intestino grueso, el intestino delgado, la córnea, la piel, la tráquea, el hueso, la médula ósea, el músculo, la vejiga, o sus partes, trasplantados.

[0023] El compuesto que se describe en este documento, y sus sales farmacéuticamente aceptables se pueden usar en preparaciones farmacéuticas en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados, comprenden rellenos sólidos inertes o diluyentes y soluciones acuosas u orgánicas estériles. El compuesto estará presente en dichas composiciones farmacéuticas en cantidad suficiente para proporcionar la cantidad de dosis deseada en el rango descrito en este documento. Las técnicas para la formulación y la administración del compuesto de la presente invención se pueden encontrar en Remington: the Science and Practice of Pharmacy, 19th edition, Mack Publishing Co., Easton, PA (1995).

[0024] Para la administración oral, el compuesto dado a conocer, o sus sales, se puede combinar con un vehículo o diluyente sólido o líquido para preparar cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos, jarabes, soluciones, suspensiones y similares.

[0025] Los comprimidos, las píldoras, las cápsulas y similares contienen entre aproximadamente 1 y aproximadamente 99 por ciento en peso del principio activo y un aglutinante como goma tragacanto, de acacia, almidón de maíz o gelatina; excipientes como fosfato dicálcico; un desintegrante como almidón de maíz, almidón de patata o ácido alginico; un lubricante como estearato de magnesio; y/o un edulcorante como sacarosa, lactosa o

sacarina. Cuando la forma farmacéutica es una cápsula, puede contener además de los materiales del tipo mencionado antes un excipiente líquido como un aceite graso.

[0026] Otros varios materiales pueden estar presentes como recubrimientos o para modificar la forma física de la forma farmacéutica. Por ejemplo, los comprimidos se pueden recubrir con laca, azúcar o ambas. Un jarabe o elixir puede contener, además del principio activo, sacarosa como edulcorante, metil y propilparabenos como conservantes, un colorante y un saborizante como saborizante de cereza o naranja.

[0027] Para la administración parenteral del compuesto dado a conocer, o de sus sales, éste se puede combinar con medios acuosos u orgánicos estériles para preparar soluciones o suspensiones inyectables. Por ejemplo, se pueden usar soluciones en aceite de sésamo o de cacahuete, propilenglicol acuoso y análogos, así como soluciones acuosas de sales del compuesto farmacéuticamente aceptables solubles en agua. También se pueden preparar dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos y sus mezclas, en aceites. En las condiciones corrientes de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para evitar la proliferación de microorganismos.

[0028] Además de las formulaciones descritas antes, los compuestos también se pueden formular como una preparación en depot. Las formulaciones adecuadas de este tipo incluyen formulaciones en hidrogel polimérico, biocompatibles y biodegradables, utilizando formulaciones de polisacáridos reticulados o insolubles en agua. También están comprendidas las formulaciones de óxido de polietileno polimerizable. Formulaciones de este tipo se dan a conocer en las patentes de los Estados Unidos N° 5,410,016, 4,713,448, 4,636,524, 6,083,524, 5,785,993, 4,937,270 y 5,017,229. Tales formulaciones de acción prolongada se pueden administrar mediante implantación, por ejemplo, subcutáneamente o intramuscularmente o por inyección intramuscular. Preferentemente, se implantan en el microambiente del órgano o tejido trasplantado. Por lo tanto, por ejemplo, los compuestos se pueden formular con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados, por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable, o resinas de intercambio iónico, o como derivados moderadamente solubles, por ejemplo, con una sal moderadamente soluble.

[0029] Preferentemente el compuesto dado a conocer o las formulaciones farmacéuticas que lo contienen se encuentran en formas farmacéuticas para administración a un mamífero. La forma farmacéutica puede ser cualquier forma farmacéutica conocida en el área, comprendidas, por ejemplo, una cápsula, una bolsa IV, o un vial. La cantidad de principio activo (a saber, compuesto 1 o sus sales) en una unidad de dosificación de la composición es una cantidad eficaz y se puede variar de acuerdo con el tratamiento particular involucrado.

[0030] Se entenderá que puede ser necesario hacer variaciones de rutina a la dosis dependiendo de la edad y la afección del paciente. La dosis también dependerá de la vía de administración que puede ser diversas vías que incluyen: oral, por aerosol, rectal, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal e intranasal.

[0031] El compuesto utilizado en el método de la presente invención puede ser coadministrado favorablemente con fármacos inmunosupresores. Los ejemplos incluyen corticoesteroides, ciclosporina A, rapamicina y FK506 o terapias con anticuerpos anti-linfocitos T. Es particularmente útil coadministrar un compuesto 1 con rapamicina o anticuerpo monoclonal anti-CD40L.

[0032] El compuesto de la presente invención se puede preparar de acuerdo con los procedimientos dados a conocer en WO 01/87849.

[0033] La invención se ilustra mediante los ejemplos 1 y 2, que no tienen la intención de ser limitantes en modo alguno.

EJEMPLIFICACIÓN

Ejemplo 1 Supresión del rechazo crónico de trasplantes utilizando compuesto 1 en un primer modelo de ratón

[0034] Se evaluó la capacidad del compuesto 1 para inhibir el rechazo crónico de trasplantes en un modelo de ratones. Específicamente, se trasplantaron corazones de ratones donantes B6.C-H2^{bm12} a ratones receptores C57/BL6 (incompatibles en el MHC II) usando el protocolo estándar descrito en Hancock, W.W., et al. Proc.Natl. Acad. Sci. USA 93: 13967 (1996) y Yuan et al., Transplantation 73:1736. Luego de la intervención quirúrgica, se dividió a los ratones en los grupos de tratamiento siguientes con siete ratones por grupo:

El grupo I fue un grupo de control que no se trató.

El grupo II se trató con compuesto 1 a una dosis de 75 mg/kg/día por vía subcutánea durante los catorce días siguientes a la intervención quirúrgica.

[0035] Ocho días después de la cirugía de trasplante, se sacrificó a los ratones y se les evaluó la arterioesclerosis acelerada por rechazo crónico. En resumen, los corazones trasplantados se fijaron en formalina, se embebieron en parafina y se cortaron coronalmente. Se hizo una detección de vasos sanguíneos arteriales en los cortes, a los que

se les realizó una puntuación histopatológica. Los puntajes histopatológicos (rango 0 – 5 que indica la gravedad de la arterioesclerosis acelerada por rechazo crónico, siendo 0 un vaso sanguíneo normal y 5 un vaso totalmente ocluido) se muestran en la figura 1. El compuesto 1 previno significativamente ($p = 0.0002$) la evidencia histológica de rechazo crónico cuando se promediaron los datos de todos los animales del estudio. El efecto fue aún más significativo cuando se examinó individualmente el puntaje de cada animal, por ejemplo, 4/7 animales no presentaron vasculopatía, en tanto tres animales tratados mostraron involucramiento total. Los tres animales del grupo de tratamiento que mostraron los puntajes más altos fueron los últimos en ser tratados y pueden haber sufrido de una menor exposición al compuesto, el cual se observó que había precipitado de la solución durante la manipulación y la dilución en la jeringa cuando estaban siendo tratados. Es probable que una mayor biodisponibilidad como consecuencia de una mejor formulación del compuesto produzca una protección más completa de la vasculopatía por rechazo crónico.

Ejemplo 2 Supresión del rechazo crónico de trasplantes utilizando compuesto 1 en un segundo modelo de ratón

[0036] Se evaluó la capacidad del compuesto 1 para inhibir el rechazo crónico del trasplante en un modelo de trasplante cardíaco alogénico heterotípico en ratón en el cual el rechazo agudo al aloinjerto se evitó por bloqueo de CD154 según se describió previamente (Hancock, W. W. D. 1996. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 93:13967; y Yuan et al., Transplantation 73:1736). En resumen, este modelo consiste en aloinjertos cardíacos incompatibles totales (donante C57/BL 6 con receptor Balb/C). Se produjo rechazo agudo en todos los receptores de trasplantes en los 10 días siguientes a la cirugía sin tratamiento, en tanto el tratamiento solo con compuesto 1 dio lugar a una prolongación estadísticamente significativa de la supervivencia del trasplante hasta aproximadamente 20 días. Se estableció un tercer grupo en el cual se bloquea el rechazo agudo administrando una dosis única de 250 µg de anticuerpo monoclonal anti-CD154 (ligando anti-CD40), y se produjo rechazo agudo (evidenciado por la cesación de la contracción del corazón trasplantado) en aproximadamente 50% de los animales receptores. Importante, el restante 50% de los receptores no demostró rechazo agudo, mantuvo un injerto funcional por un período prolongado (mayor a 100 días). El examen histológico de los corazones trasplantados en este grupo de tratamiento a los 100 días de la cirugía muestra 3 marcas distintivas principales del proceso de rechazo crónico. Estas incluyen bloqueos arterioescleróticos profundos de arterias cardíacas, inflamación celular (infiltración de células inmunitarias en el propio músculo cardíaco) y cicatrización fibrótica del parénquima cardíaco. Los corazones fueron sometidos a puntuación histopatológica. Los puntajes histopatológicos (que varían 0 - 5 indican la gravedad de la arterioesclerosis acelerada por rechazo crónico, siendo 0 un vaso sanguíneo normal y 5 uno completamente ocluido) se muestran en la figura 2. Por consiguiente el agregado de anti-CD154 a este modelo ofrece ciertas similitudes con el cuadro clínico del trasplante en humanos en que el rechazo agudo se maneja (en este caso con el anticuerpo monoclonal anti-CD 154) de modo que se pueda observar la patología de rechazo crónico. El agregado de compuesto 1 (75 mg/kg diariamente, por vía subcutánea durante 14 días luego de la cirugía) a un segundo grupo de animales que habían recibido anti-CD154 (para bloquear el rechazo agudo, administrado como una dosis única inmediatamente después de la cirugía) produjo una notable ausencia de rechazo agudo en el 100% de los animales receptores de trasplante durante más de 100 días luego de la cirugía. La evaluación histológica de los corazones trasplantados para los tres indicadores de rechazo crónico del injerto descritos antes, reveló una inhibición impresionante de todos los indicadores de rechazo crónico del trasplante. Los puntajes histopatológicos para estos corazones también se muestran en la figura 2. La comparación de los puntajes en la figura 2 muestra que los animales tratados con compuesto 1 tienen una disminución impresionante del rechazo crónico en comparación con los animales que no fueron tratados con compuesto 1.

Ejemplo 3 Supresión del rechazo del trasplante usando compuesto 1 (ejemplo ilustrativo)

[0037] Se evaluó la capacidad del compuesto 1 para inhibir el rechazo del trasplante en un modelo de ratón. Específicamente, se trasplantó el corazón de un ratón C57/BL6 a un ratón receptor Balb/c (incompatibilidad total en el MHC) usando un protocolo estándar descrito en Hancock, W.W., et al. "Costimulatory function and expression of CD40 ligand, CD80 and CD86 in vascularized murine cardiac allograft rejection" Proc.Natl. Acad. Sci. USA 93: 13967 (1996). Luego de la cirugía, se dividió a los ratones en los grupos de tratamiento siguientes:

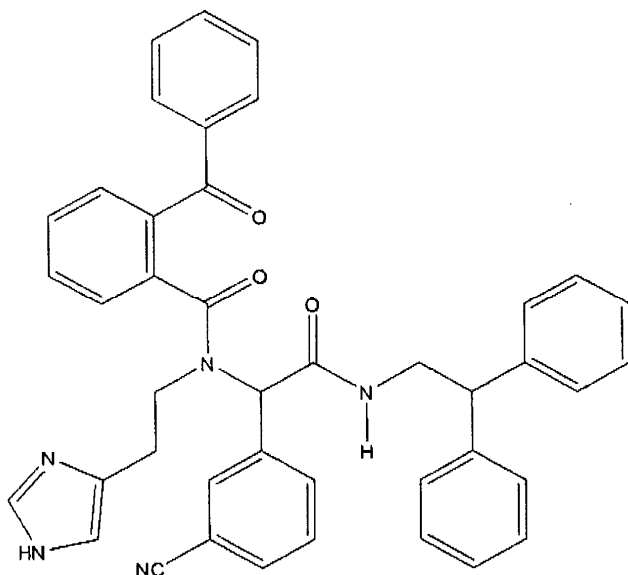
El grupo I es un grupo de control que no se trató.

El grupo II se trató con compuesto 1 a una dosis de 75 mg/kg/día por vía subcutánea durante los catorce días siguientes a la intervención quirúrgica.

[0038] Los ratones de control que no recibieron tratamiento presentaron reproduciblemente rechazo de los corazones trasplantados después de tan sólo diez días. Los ratones que recibieron solo compuesto 1, mostraron un retardo estadísticamente significativo (dos a tres semanas) ($p < 0.001$) en el inicio del rechazo.

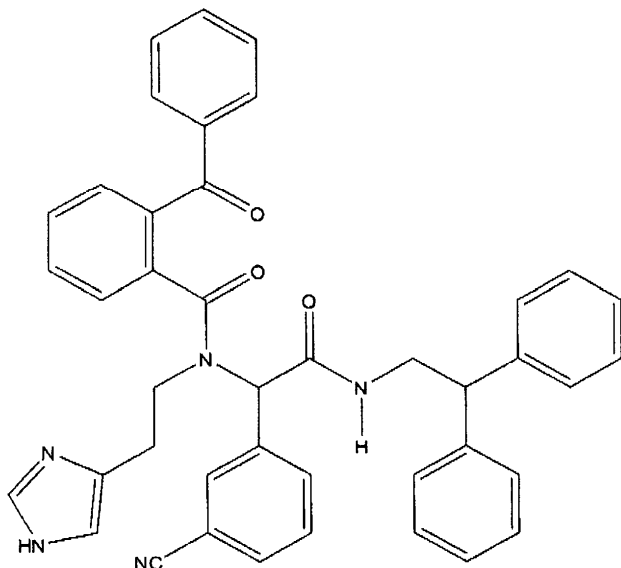
REIVINDICACIONES

1. El uso de una cantidad eficaz de un compuesto representado por la fórmula estructural siguiente:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para la fabricación de un medicamento que inhiba el rechazo crónico de un tejido u órgano trasplantado en un ser humano, donde el órgano o el tejido trasplantado es corazón, riñón, pulmón, hígado, páncreas, islotes pancreáticos, tejido cerebral, estómago, intestino grueso, intestino delgado, córnea, piel, tráquea, músculo o vejiga, o parte del corazón, el riñón, el pulmón, el hígado, el páncreas, los islotes pancreáticos, el tejido cerebral, el estómago, el intestino grueso, el intestino delgado, la córnea, la piel, la tráquea, el músculo o la vejiga.

2. Un compuesto representado por la fórmula estructural siguiente:



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para usar en la inhibición del rechazo crónico de un tejido u órgano trasplantado en un ser humano, donde el órgano o el tejido trasplantado es corazón, riñón, pulmón, hígado, páncreas, islotes pancreáticos, tejido cerebral, estómago, intestino grueso, intestino delgado, córnea, piel, tráquea, músculo o vejiga, o parte del corazón, el riñón, el pulmón, el hígado, el páncreas, los islotes pancreáticos, el tejido cerebral, el estómago, el intestino grueso, el intestino delgado, la córnea, la piel, la tráquea, el músculo o la vejiga.

La monoterapia con Compuesto 1 inhibe significativamente la patología vascular
(arterioesclerosis por rechazo crónico)
en un modelo de trasplante cardíaco en ratones incompatibles en el MHC II

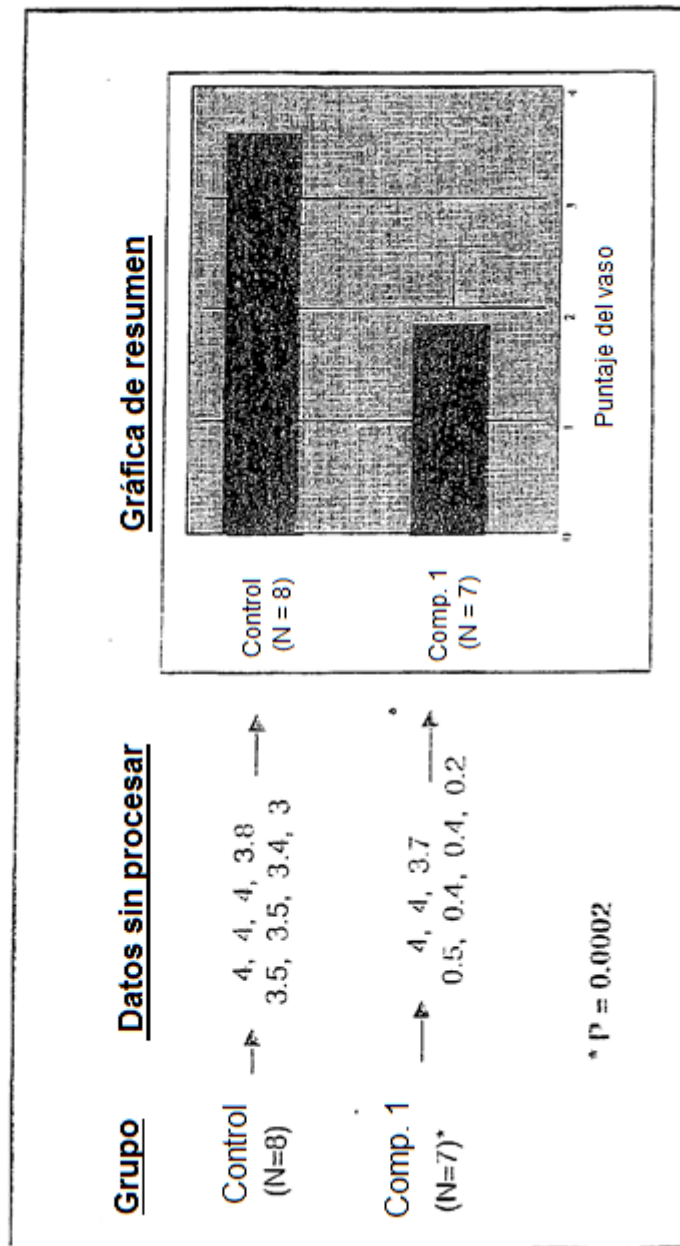


Figura 1

El Compuesto 1 inhibe significativamente la vasculopatía por rechazo crónico de aloinjerto cardíaco en ratones con incompatibilidad total (MHC I y MHC II dispares) *

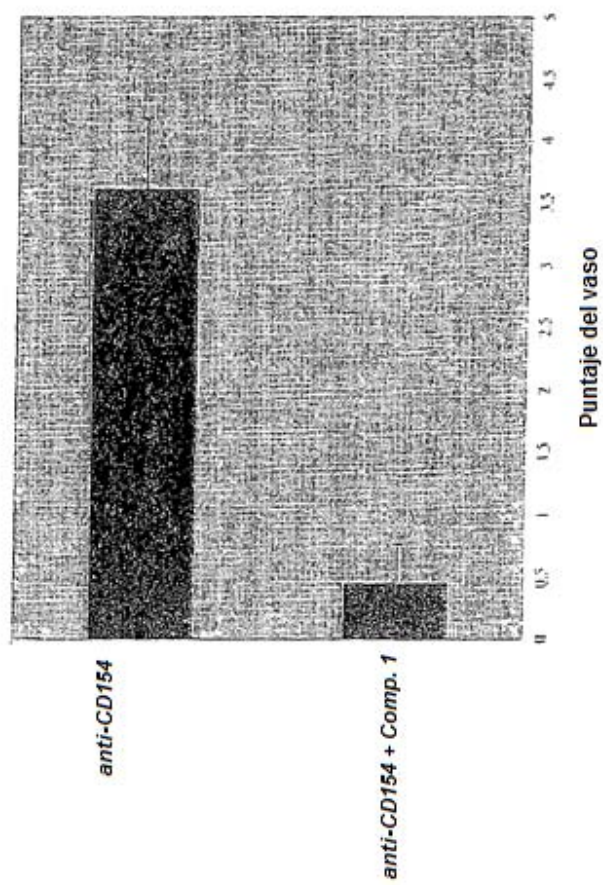


Figura 2