

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 372 756**

51 Int. Cl.:

<b>A61K 31/4425</b>	(2006.01)	<b>A61P 25/16</b>	(2006.01)
<b>A61P 1/04</b>	(2006.01)	<b>A61P 25/28</b>	(2006.01)
<b>A61P 1/16</b>	(2006.01)	<b>A61P 29/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 3/04</b>	(2006.01)	<b>A61P 31/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 3/10</b>	(2006.01)	<b>A61P 41/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 9/00</b>	(2006.01)		
<b>A61P 9/10</b>	(2006.01)		
<b>A61P 9/12</b>	(2006.01)		
<b>A61P 11/00</b>	(2006.01)		
<b>A61P 15/10</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **05726215 .6**  
96 Fecha de presentación: **07.01.2005**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1713480**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **25.10.2006**

54 Título: **USO DE SALES DE PIRIDINIO CUATERNARIO COMO AGENTES VASOPROTECTORES.**

30 Prioridad:  
**12.01.2004 PL 36434804**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**26.01.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**26.01.2012**

73 Titular/es:  
**Pharmena SA**  
**ul. Wólczanska 178**  
**90-530 Łódz, PL**

72 Inventor/es:  
**GEBICKI, Jerzy y**  
**CHLOPICKI, Stefan**

74 Agente: **Arias Sanz, Juan**

ES 2 372 756 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Uso de sales de piridinio cuaternario como agentes vasoprotectores

5 La presente invención se refiere al uso de ciertas sales de piridinio cuaternario para la preparación de un agente vasoprotector para el tratamiento y/o prevención de afecciones o enfermedades asociadas con disfunción del endotelio vascular, agresión oxidativa y/o producción insuficiente de prostaciclina endotelial (PGI<sub>2</sub>), en particular pero no exclusivamente si lo anterior coincide con hipercolesterolemia/hipertrigliceridemia, así como el uso de sales de piridinio para el uso oral en suplementos dietéticos.

10 Hay evidencias crecientes de que la disfunción endotelial desempeña un papel clave en la formación y progresión de la placa aterosclerótica. Recientemente, la disfunción endotelial ha ganado significancia diagnóstica, pronóstica y terapéutica en aterotrombosis (Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Munzel T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104:2673-2678; Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 2000; 101:1899-1906; Perticone F, Ceravolo R, Pujia A, Ventura G, Iacopino S, Scozzafava A, Ferraro A, Chello M, Mastroberto P, Verdecchia P, Schillaci G. Prognostic significance of endothelial dysfunction in hypertensive patients. *Circulation* 2001; 104:191-196; Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR, Jr., Lerman A. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation* 2000; 101:948-954). Clínicamente, la disfunción endotelial se identifica como deficiencia de la actividad biológica de NO, que se diagnostica como una deficiencia de la actividad vasodilatadora de NO. La deficiencia de la actividad de NO coincide con agresión oxidativa (Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Munzel T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001; 104:2673-2678) y deficiencia de la síntesis de PGI<sub>2</sub> (Kyrle PA, Minar E, Brenner B, Eichler HG, Heisteringer M, Marosi L, Lechner K. Thromboxane A<sub>2</sub> and prostacyclin generation in the microvasculature of patients with atherosclerosis - effect of low-dose aspirin. *Thromb Haemost* 1989; 61:374-377), aunque el nivel sistémico de PGI<sub>2</sub> puede estar elevado. En efecto, hace algunos años se propuso que la peroxidación aumentada de lípidos podría fomentar el desarrollo de aterosclerosis debido a la deficiencia selectiva de la síntesis de prostaciclina en células endoteliales y posterior activación de plaquetas (Gryglewski RJ. Prostacyclin and atherosclerosis. *TIPS* 1980; 1:164-168; Gryglewski RJ. Prostaglandins, platelets, and atherosclerosis. *CRC Crit Rev Biochem* 1980; 7:291-338; Gryglewski RJ, Szczeklik A. Prostacyclin and atherosclerosis - experimental and clinical approach. 1983; 213-226). Este concepto se apoyó luego experimentalmente. Ahora es aparente que la deficiencia en la síntesis de PGI<sub>2</sub> en endotelio puede producir la estimulación excesiva de receptores TP en células de endotelio y músculo liso vascular por TXA<sub>2</sub>, PGH<sub>2</sub> u otros eicosanoides, y una posterior vasoconstricción, agregación de plaquetas y respuesta inflamatoria del endotelio así como apoptosis endotelial (Chlopicki S, Gryglewski RJ. Endothelial secretory function and atherothrombosis in "The Eicosanoids", capítulo 23, 267-276. ed. P. Curtis-Prior, John Wiley and Sons, Ltd, 2004). Esto significa que la deficiencia de PGI<sub>2</sub> puede desencadenar o aumentar los procesos inflamatorios y trombóticos en la pared vascular, que ahora se considera que son los elementos clave de aterosclerosis.

40 Se ha aceptado que niveles elevados de colesterol en lipoproteínas de baja densidad (LDL) y/o triglicéridos (TG) en plasma representan los factores de riesgo principales para el desarrollo de aterosclerosis (Levine GN, Keaney JF Jr, Vita JA. Cholesterol reduction in cardiovascular disease. Clinical benefits and possible mechanisms. *N Engl J Med* 1995; 332:512-521). Además, un nivel bajo en plasma de colesterol en lipoproteínas de densidad alta (HDL) es un importante factor de riesgo independiente de aterosclerosis. Las HDL tienen la capacidad potencial de prevenir y corregir la disfunción del endotelio mediante el aumento de la disponibilidad de NO y PGI<sub>2</sub>. (Ng DS. Treating low HDL - from bench to bedside. *Clin Biochem* 2004; 37:649-659; Chapman MJ, Assman G, Fruchart JC, Shepherd J, Sirtoti C. Raising high-density lipoprotein cholesterol with reduction of cardiovascular risk: the role of nicotinic acid - a position paper developed by the European Consensus Panel on HDL-C. *Curr Med Res Opin* 2004; 20:1253-1268; Calabresi L, Gomarashi M, Franceschini G. Endothelial protection by high-density lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 290:2292-2300).

55 En el documento WO00/40559 se divulgaron usos terapéuticos y cosméticos de ciertos derivados de nicotinamida, sales de piridinio 1,3-disustituido, incluyendo, sales de 1-metilnicotinamida (MNA+) y 1-metil-N'-(hidroximetil)-nicotinamida (MNAF+). Se describió que dichos derivados tienen utilidad en el tratamiento tópico de enfermedades de la piel, en particular úlceras femorales, acné, psoriasis, dermatitis atópica, vitíligo, así como quemaduras y escaldaduras y en cicatrización. Dichos derivados también tienen la actividad de fomentar que el pelo vuelva a crecer, por tanto, son útiles en el tratamiento de la pérdida de pelo de origen diferente. Se describen diferentes tipos de formulaciones tópicas para la administración de estos compuestos sobre la piel o superficie de la mucosa, como champú, pomadas, cremas, geles, lociones, soluciones, aerosoles, etc., y para la administración oral en el tratamiento de enfermedades de la piel. Además, se describió la acción cosmética de estos compuestos, en particular regenerar y suavizar la piel.

65 En una publicación reciente, se describieron efectos de cloruro de 1-metilnicotinamida (MNA+) en algunas enfermedades de la piel (Gębicki J, Sysa-Jędrzejowska A, Adamus J, Woźniacka A, Rybak M, Zielonka J. 1-

Methylnicotinamide: a potent anti-inflammatory agent of vitamin origin. *Pol J Pharmacol* 2003; 55:109-112). Se ha propuesto que MNA<sup>+</sup> muestra una acción antiinflamatoria, aunque el mecanismo de este efecto no se elucidó.

5 Se describió la sal de 1-metil-3-acetilpiridinio (MAP<sup>+</sup>) en una publicación (Takashi Sakurai, Haruo Hosoya. Charge transfer complexes of nicotinamide-adenine dinucleotide analogs and flavine mononucleotide. *Biochim. Biophys. Acta* 1966; 112(3):359-468).

10 En el documento DE 840698 se divulga que la 1-metil-N-metilnicotinamida es útil en el tratamiento de infecciones del aparato digestivo.

10 En Filetti, S. et al: "Insulin receptor down-regulation: prevention at a postreceptor site" *ENDOCRINOLOGY*, 108(6), 1981, se divulga que la 1-metilnicotinamida previene la disminución de receptores de insulina mediada por insulina.

15 En Fukushima, Tetsuhito et al: "Possible role of 1-methylnicotinamide in the pathogenesis of Parkinson's disease" *EXPERIMENTAL AND TOXICOLOGIC PATHOLOGY*, 53(6), 469-473 y en Fukushima T et al: "Radical formation site of cerebral complex I and Parkinson's disease" *JOURNAL OF NEUROSCIENCE RESEARCH*, WILEY-LISS, US, vol. 42, no. 3, 1995, páginas 385-390, se discute un papel de la 1-metilnicotinamida en la enfermedad de Parkinson.

20 Se ha encontrado ahora que MAP<sup>+</sup> y algunos compuestos descritos en el documento WO00/40559, en particular MNA<sup>+</sup> y MNAF<sup>+</sup> poseen propiedades farmacológicas únicas asociadas con su capacidad para liberar prostaciclina endógena (PGI<sub>2</sub>) del endotelio vascular, propiedad que las distingue de las estructuralmente muy relacionadas nicotinamida, ácido nicotínico, trigonelina y metabolitos endógenos de MNA<sup>+</sup>, tales como 1-metil-2-piridona-5-caboxamida (2-PYR) y 1-metil-4-piridona-3-carboxamida (4-PYR). Sorprendentemente, como han encontrado los  
25 presentes inventores, ciertos compuestos poseen la capacidad de corregir el perfil de lipoproteínas, en particular de bajar el nivel en plasma de LDL y/o TG y de aumentar el nivel en plasma de HDL, lo que produce efectos antiateroscleróticos. Independientemente del efecto de ciertas sales de piridinio cuaternario de la invención sobre el perfil de lipoproteínas, el aumento en la síntesis de PGI<sub>2</sub> por sales de piridinio cuaternario, que han encontrado los presentes inventores, puede mostrar potencial terapéutico en muchas enfermedades como se discute  
30 posteriormente, donde la disfunción endotelial, agresión oxidativa y/o deficiencia en PGI<sub>2</sub> desempeñan un papel patogénico, incluyendo los asociados con hipercolesterolemia/hipertrigliceridemia.

#### Breve descripción de las figuras del dibujo

35 Figura 1. Esquema del método para la detección de la acción trombolítica de fármacos *in vivo* en ratas (según Gryglewski).

Figura 2. Respuesta trombolítica inducida por la administración intravenosa de MNA<sup>+</sup> *in vivo* (30 mg/kg).

40 Figura 3. Cambios en los niveles en plasma de 6-ceto-PGF<sub>1α</sub> (•) y TBX<sub>2</sub> (◦) después de la administración intravenosa de MNA<sup>+</sup> (30 mg/kg).

Figura 4. Falta de respuesta trombolítica después de la administración intravenosa de nicotinamida o ácido nicotínico (30 mg/kg).

45 Figura 5. Falta de respuesta trombolítica después de la administración intravenosa de 2-PYR o trigonelina (30 mg/kg).

Figura 6. Respuesta trombolítica inducida por la administración intravenosa de MAP<sup>+</sup> *in vivo* (30 mg/kg).

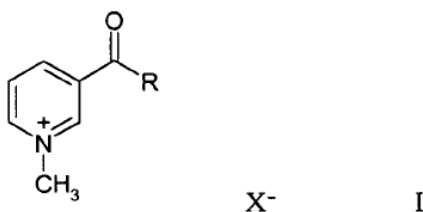
50 Figura 7. Cambios en los niveles en plasma de 6-ceto-PGF<sub>1α</sub> (•) y TBX<sub>2</sub> (◦) después de la administración intravenosa de MAP<sup>+</sup> (30 mg/kg).

Figura 8. Respuesta trombolítica inducida por la administración intravenosa de MNAF<sup>+</sup> (30 mg/kg).

55 Figura 9. Falta de efecto de MNA<sup>+</sup> sobre la agregación de plaquetas inducida por colágeno (1 mg/ml).

Figura 10. Falta de efecto de MNA<sup>+</sup> sobre la activación de neutrófilos inducida por látex.

60 La presente invención proporciona el uso de sales de piridinio cuaternario de la fórmula I:



en donde R es NH<sub>2</sub> o CH<sub>3</sub>, y X es un contraión farmacéuticamente aceptable,

5 para la preparación de un agente vasoprotector para el tratamiento o prevención de afecciones o enfermedades asociadas con disfunción del endotelio vascular, agresión oxidativa, y/o producción insuficiente de prostaciclina endotelial PGI<sub>2</sub>, en donde dicha afección o enfermedad se selecciona de :

- aterosclerosis;
- 10 - aterosclerosis en pacientes con enfermedad coronaria crónica, episodio cerebrovascular isquémico o arterioesclerosis de las extremidades, incluyendo tromboangitis obliterante;
- hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia o nivel bajo de HDL;
- 15 - trombosis no relacionada directamente con aterosclerosis, en particular trombosis asociada con el implante de prótesis vasculares metálicas (stents), cirugía de derivación coronaria-aortica (CABG, por sus siglas en inglés), hemodiálisis, enfermedad tromboembólica venosa;
- 20 - factores de riesgo para aterosclerosis seleccionados del grupo que consiste en los siguientes: hipercolesterolemia, hipertensión arterial, hiperhomocisteinemia, obesidad, tensión nerviosa, infecciones, vasculopatía por aloinjerto y tolerancia a nitrato; o
- 25 - un grupo que consiste en lo siguiente: insuficiencia cardíaca crónica, hipertensión pulmonar, síndrome nefrótico, insuficiencia renal crónica, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), fibrosis quística, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), preeclampsia/eclampsia, disfunción eréctil, síndrome de Stein-Leventhal, apnea del sueño, lupus eritematoso sistémico, anemia falciforme, úlceras gástricas o duodenales, glaucoma, enfermedad hepática crónica, en particular hepatitis vírica, amiloidosis primaria.

30 Una actividad particularmente ventajosa de los compuestos de la fórmula I es su acción endotelial asociada con la liberación de PGI<sub>2</sub>, debido a lo cual dichos compuestos de fórmula I pueden mejorar la perfusión en tejidos, ejercer actividad antiagregatoria, trombolítica, antiateroesclerótica, y proteger la mucosa gastrointestinal.

35 La ventaja de la invención es que la acción trombolítica de los compuestos de la fórmula I no está acompañada por actividad hipotensora.

En una forma de realización de la invención, dicha afección o la enfermedad es aterosclerosis del lecho vascular de cualquier tipo, incluyendo enfermedad coronaria crónica, episodio cerebrovascular isquémico o arterioesclerosis de las extremidades, incluyendo tromboangitis obliterante.

40 En otra forma de realización dicha afección o enfermedad se selecciona del grupo de factores de riesgo para aterosclerosis seleccionados del grupo que consiste en los siguientes: hipertensión arterial, hiperhomocisteinemia, obesidad, tensión nerviosa, infecciones, vasculopatía por aloinjerto y tolerancia a nitrato.

45 En aún otra forma de realización dicha afección o la enfermedad es dislipidemia, en particular hipercolesterolemia o hipertrigliceridemia, en particular asociada con nivel bajo en plasma de HDL.

50 En aún otra forma de realización dicha afección o enfermedad es trombosis que no está relacionada directamente con aterosclerosis, en particular, trombosis asociada con el implante de prótesis vasculares metálicas (stents), cirugía de derivación coronaria-aortica (CABG), cualquier tipo de cirugía con circulación extracorpórea, hemodiálisis, enfermedad tromboembólica venosa.

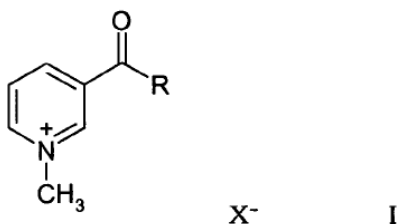
55 En una forma de realización adicional dicha afección o enfermedad se selecciona del siguiente grupo: insuficiencia cardíaca crónica, hipertensión pulmonar, síndrome nefrótico, insuficiencia renal crónica, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), fibrosis quística, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), preeclampsia/eclampsia, disfunción eréctil, síndrome de Stein-Leventhal, apnea del sueño, lupus eritematoso sistémico, anemia falciforme, úlceras gástricas o duodenales, glaucoma, enfermedad hepática crónica y amiloidosis primaria.

También es ventajoso el uso de los compuestos de fórmula I para la preparación de un medicamento para la profilaxis o tratamiento de úlcera gástrica o duodenal.

5 En una forma de realización preferida adicional dicha afección o enfermedad es enfermedad hepática crónica, en particular hepatitis vírica crónica.

En una forma de realización preferida adicional dicha afección o enfermedad es enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

10 En un segundo aspecto se proporciona un uso de sales de piridinio cuaternario de la fórmula I:



15 en donde R es NH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> o un grupo N(H)CH<sub>2</sub>OH y X es un contraión farmacéuticamente aceptable, para la preparación de un agente vasoprotector para el tratamiento o prevención de afecciones o enfermedades asociadas con disfunción del endotelio vascular, agresión oxidativa y/o producción insuficiente de prostaciclina endotelial PGI<sub>2</sub>, en donde dicha afección o enfermedad se selecciona de :

- aterosclerosis;
- 20 - aterosclerosis en pacientes con enfermedad coronaria crónica, episodio cerebrovascular isquémico o arterioesclerosis de las extremidades, incluyendo tromboangitis obliterante;
- hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia o nivel bajo de HDL;
- 25 - trombosis no relacionada directamente con aterosclerosis, en particular trombosis asociada con el implante de prótesis vasculares metálicas (stents), cirugía de derivación coronaria-aortica (CABG), hemodiálisis, enfermedad tromboembólica venosa;
- factores de riesgo para aterosclerosis seleccionados del grupo que consiste en los siguientes: hipertensión arterial, hiperhomocisteinemia, obesidad, tensión nerviosa, infecciones, vasculopatía por aloinjerto y tolerancia a nitrato; o
- 30 - un grupo que consiste en lo siguiente: insuficiencia cardíaca crónica, hipertensión pulmonar, síndrome nefrótico, insuficiencia renal crónica, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), fibrosis quística, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), preeclampsia/eclampsia, disfunción eréctil, síndrome de Stein-Leventhal, apnea del sueño, lupus eritematoso sistémico, anemia falciforme, úlceras gástricas o duodenales, glaucoma, enfermedad hepática crónica, en particular hepatitis vírica y amiloidosis primaria.
- 35

40 Dicho medicamento puede estar en una forma adecuada para cualquier vía de administración, tal como vía oral, parenteral, intranasal o por inhalación. Tal vía de administración dependerá, por supuesto, del estado o enfermedad particular que se trata.

45 En el caso de un medicamento que se pretende para el tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) preferiblemente se presentará en la forma adecuada para la administración inhalada a través de la vía de inhalación.

50 Como se ha definido anteriormente, X<sup>-</sup> puede ser cualquier contraión fisiológicamente aceptable. De esta manera, las sales de la fórmula I pueden derivar de cualquier ácido fisiológicamente aceptable, tanto orgánico como inorgánico. Las sales adecuadas con ácidos inorgánicos son, por ejemplo, cloruro, bromuro, yoduro y carbonato; las sales adecuadas con ácidos orgánicos pueden ser sales con ácidos mono-, di- y tricarbónicos, por ejemplo, acetato, benzoato, salicilato, hidroxiacetato, lactato, malonato y citrato. Las sales preferidas son cloruros, benzoatos, salicilatos, acetatos, citratos y lactatos; especialmente ventajosos son los cloruros.

55 Compuestos específicos de fórmula (I) son sales de 1-metilnicotinamida (MNA<sup>+</sup>), sales de 1-metil-3-acetilpiridinio (MAP<sup>+</sup>) y sales de 1-metil-N'-(hidroximetil)nicotinamida (MNAF<sup>+</sup>).

Las sales de piridinio de fórmula I también se pueden administrar por vía parenteral, en forma de inyecciones, incluyendo inyecciones e infusiones subcutáneas e intravenosas.

Otras vías de administración contempladas son por inhalación, vía intranasal y vía rectal.

En cualquier caso la vía de administración dependerá, por supuesto, de la enfermedad particular que se trata.

Por ejemplo, en el caso de un tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) preferiblemente las sales de piridinio se administrarán en la forma adecuada para la administración inhalada a través de la vía de inhalación.

La dosis diaria de las sales de piridinio de la fórmula I pueden estar en el intervalo de 10 a 1000 mg de y se puede administrar en dosis únicas o divididas.

La presente invención proporciona además un uso de las sales de piridinio de la fórmula I como se ha definido anteriormente, para la preparación de una preparación nutricional para la protección vascular en mamíferos en estados o enfermedades asociadas con disfunción del endotelio vascular, agresión oxidativa y/o producción insuficiente de prostaciclina endotelial (PGI<sub>2</sub>) en donde dicha afección o enfermedad se selecciona de :

- aterosclerosis;
- aterosclerosis en pacientes con enfermedad coronaria crónica, episodio cerebrovascular isquémico o arterioesclerosis de las extremidades, incluyendo tromboangitis ocluyente;
- hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia o nivel bajo de HDL;
- trombosis no relacionada directamente con aterosclerosis, en particular trombosis asociada con el implante de prótesis vasculares metálicas (stents), cirugía de derivación coronaria-aortica (CABG), hemodiálisis, enfermedad tromboembólica venosa; o
- factores de riesgo para aterosclerosis seleccionados del grupo que consiste en los siguientes: hipertensión arterial, hiperhomocisteinemia, obesidad, tensión nerviosa, vasculopatía por aloinjerto y tolerancia a nitrato.

Dicha afección o enfermedad en donde se puede administrar la preparación nutricional es aterosclerosis, especialmente en pacientes con enfermedad coronaria crónica, episodio cerebrovascular isquémico o arterioesclerosis de las extremidades, incluyendo tromboangitis ocluyente.

Dicha afección o enfermedad en donde se puede administrar la preparación nutricional también se puede seleccionar del grupo de factores de riesgo para aterosclerosis que consiste en los siguientes: hipertensión arterial, hiperhomocisteinemia, obesidad, tensión nerviosa, vasculopatía por aloinjerto y tolerancia a nitrato.

Dicha afección o enfermedad en donde se puede administrar la preparación nutricional es dislipidemia, en particular hipercolesterolemia o hipertrigliceridemia, en particular asociada con nivel bajo en plasma de HDL.

Dicha afección o enfermedad en donde se puede administrar la preparación nutricional también puede ser trombosis que no está relacionada directamente con aterosclerosis, en particular, trombosis asociada con el implante de prótesis vasculares metálicas (stents), cirugía de derivación coronaria-aortica (CABG), cualquier tipo de cirugía con circulación extracorpórea, hemodiálisis, enfermedad tromboembólica venosa.

Sales específicas de piridinio para su uso en la preparación nutricional son compuestos de la fórmula (I), en donde R es un grupo CH<sub>3</sub>.

Sales específicas de piridinio para su uso en la preparación nutricional son compuestos de la fórmula (I), en donde R es un grupo NH<sub>2</sub>.

Sales específicas de piridinio para su uso en la preparación nutricional son compuestos de la fórmula (I), en donde R es un grupo N(H)CH<sub>2</sub>OH.

Las preparaciones nutricionales pueden tener la forma adecuada para la ingestión oral, tal como comprimidos, cápsulas, soluciones y suspensiones para beber, y similares, convencionales y conocidas en la técnica farmacéutica y preparadas según métodos conocidos en la técnica con el uso de excipientes y soportes convencionales.

De forma ventajosa, la preparación nutricional puede incorporar al menos el 5% en peso de la sal de piridinio de la fórmula I.

La invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, que muestran la actividad farmacológica de las sales de piridinio.

### Ejemplo I

#### Actividad trombolítica

La actividad trombolítica de las sales de piridinio cuaternario se evaluó usando el método original de Gryglewski y col., (Gryglewski RJ, Korbut R, Ocetkiewicz A, Stachura J. In vivo method for quantitation for anti-platelet potency of drugs. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1978; 302:25-30), cuyo esquema se muestra en la figura 1.

Se anestesiaron (tiopental 30 mg kg<sup>-1</sup> i.p.) y heparinizaron (heparina sin fraccionar 800 UI kg<sup>-1</sup> i.v.) ratas Wistar de peso corporal 300-350 g. Se midió la presión sanguínea arterial de la arteria carótida derecha canulada, y se estableció circulación extracorpórea entre la arteria carótida izquierda y la vena yugular izquierda. Se superfundió una tira de colágeno de tendón de Aquiles de conejo con sangre arterial en la circulación extracorpórea a una velocidad de 1,5 ml min<sup>-1</sup> y su peso se controló continuamente mediante un transductor auxotónico Harvard.

Durante los 20-30 minutos iniciales de la superfusión la tira ganaba en peso 80-120 mg debido al depósito de trombos ricos en plaquetas y después en condiciones de control se mantuvo sin cambiar durante las siguientes 3-5 horas. La respuesta trombolítica se detectó por una caída en peso de un trombo. La presión sanguínea arterial también se controló, de modo que este modelo permitió el análisis de la acción trombolítica e hipotensora de un compuesto (figura 1).

El análisis de la respuesta trombolítica en este marco experimental se complementó mediante el ensayo de 6-ceto-PGF<sub>1α</sub>, TXB<sub>2</sub> y PGE<sub>2</sub> en plasma de sangre arterial. Para este fin se recogieron muestras de sangre (500 µl) en tubos Eppendorf con indometacina para dar una concentración final de 10 µM, y EDTA para dar la concentración final de 1 mM. Después se centrifugaron las muestras de sangre durante 5 minutos a 2.000 x g. Las muestras de plasma se almacenaron a -70°C. Los prostanoideos se evaluaron usando los kits de inmunoensayos enzimáticos (Cayman Chemical Co, Ann Arbor, MI).

La administración intravenosa de MNA<sup>+</sup> (3-30 mg/kg) produjo una trombólisis dependiente de la concentración en ratas Wistar con circulación extracorpórea. Se observó una respuesta máxima a una dosis de MNA<sup>+</sup> de 30 mg/kg. Una inyección única de MNA<sup>+</sup> a una dosis de 30 mg/kg indujo una respuesta trombolítica de larga duración al nivel del 42 ± 4% y se mantuvo a aproximadamente el mismo nivel durante 2-3 horas del periodo de observación. En contraste con MNA<sup>+</sup>, nicotinamida, ácido nicotínico, trigonelina y 2-PYR (metabolito endógeno de MNA<sup>+</sup>), cada uno de ellos a 30 mg/kg, no pudieron inducir una respuesta trombolítica significativa. Las respuestas inducidas por nicotinamida y ácido nicotínico fueron transitorias (menos de 15-20 minutos) y en el máximo ascendieron solamente al 9 ± 0,6%, 5 ± 0,9%, respectivamente). La trigonelina no produjo ninguna respuesta trombolítica y la respuesta a 2-PYR también fue muy débil (< 10%) y transitoria (< 15 minutos). La potencia y duración de las respuestas trombolíticas a MNA<sup>+</sup>, nicotinamida y ácido nicotínico se correlacionaron con un patrón de liberación de 6-ceto-PGF<sub>1α</sub> a plasma arterial inducida por estos compuestos. MNA<sup>+</sup> (30 mg/kg) indujo un aumento sustancial en los niveles de 6-ceto-PGF<sub>1α</sub> ya a los 15 minutos después de la inyección del fármaco (de 104 ± 7 a 460 ± 58 pg/ml) que alcanzó una meseta de aproximadamente 400 pg/ml durante al menos una hora. Por otra parte ni los niveles de TXB<sub>2</sub> ni los de PGE<sub>2</sub> cambiaron significativamente en respuesta a MNA<sup>+</sup>. Un aumento lento en los niveles de TXB<sub>2</sub> era dependiente del tiempo y se observó también después de la inyección de solución salina. Los niveles de 6-ceto-PGF<sub>1α</sub> no aumentaron después de la inyección de nicotinamida o después de la inyección de ácido nicotínico (30 mg/kg).

En presencia de indometacina (5 mg/kg) la respuesta trombolítica a MNA<sup>+</sup> se abrogó, de forma similar a la liberación de 6-ceto-PGF<sub>1α</sub> inducida por MNA. De forma importante, la trombólisis inducida por MNA<sup>+</sup> (30 mg/kg) no se asoció con una caída en la presión sanguínea arterial. La agregación del plasma rico en plaquetas inducida por colágeno *in vitro* no estaba afectada por MNA<sup>+</sup> hasta una concentración de 10 mM, lo que excluye la posibilidad de que la disipación de trombos ricos en plaquetas *in vivo* fuera debida al efecto directo de MNA<sup>+</sup> sobre plaquetas. Además, MNA<sup>+</sup> (1 mM) no inhibió la activación de neutrófilos inducida por látex, lo que sugiere una posible selectividad de MNA<sup>+</sup> hacia el endotelio.

La figura 2 muestra la respuesta trombolítica *in vivo* inducida por MNA<sup>+</sup>, y la figura 3 muestra un aumento concomitante en el nivel de de 6-ceto-PGF<sub>1α</sub> (metabolito de PGI<sub>2</sub> estable) en sangre. Nicotinamida, ácido nicotínico (figura 4), trigonelina y 2-PYR (figura 5) no mostraron actividad trombolítica significativa. Sin embargo, MAP<sup>+</sup> (30 mg/kg) y MNAF<sup>+</sup> (30 mg/kg) indujeron cada una de ellas una respuesta trombolítica (figura 6 y figura 8) que era comparable a la inducida por MNA<sup>+</sup> 30 mg/kg. La trombólisis inducida por MAP<sup>+</sup> se asoció con la liberación de PGI<sub>2</sub> (figura 7), de forma similar al caso de la trombólisis inducida por MNA<sup>+</sup>. MNA<sup>+</sup> (30-300 mg/kg) no produjo hipotensión. Como se muestra en la figura 9 y la figura 10, MNA<sup>+</sup> no inhibió la agregación de plaquetas inducida por colágeno ni la activación de neutrófilos inducida por látex. La primera respuesta depende de COX1-TXA<sub>2</sub> y se abrogó por aspirina, mientras que la última depende de NADPH oxidasa y se abrogó por DPI o apocinina.

**Ejemplo 2**

**Un efecto antiaterogénico in vivo en pacientes**

5 Se investigó el efecto antiaterogénico de MNA<sup>+</sup> en 15 pacientes dislipidémicos.

Los criterios de inclusión fueron: nivel alto de TG ( $\geq 250$  mg/dl) y nivel bajo de HDL ( $\leq 35$  mg/dl para hombres,  $\leq 45$  mg/dl para mujeres). La edad media de los pacientes fue 61,4 (intervalo 45-81 años).

10 Los pacientes se trataron con MNA<sup>+</sup> durante 2 semanas. El MNA<sup>+</sup> se administró por vía oral, tres veces al día, una cápsula (30 mg de MNA<sup>+</sup>) después de las comidas.

Se midieron los niveles en plasma iniciales y después de dos semanas de terapia de CT, TG, HDL. El nivel de LDL se midió en esos casos, en los que fue posible (debido al alto nivel de TG).

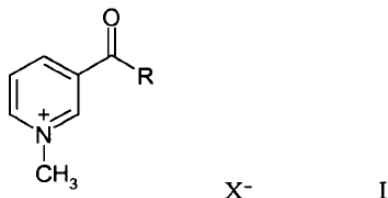
15 Se encontró que MNA<sup>+</sup> redujo los niveles de CT (267,0 frente a 225,1 mg/dl) (-15,7%) y TG (472,6 frente a 249,9 mg/dl) (-47,1%) entre las medidas inicial y de 2 semanas. También se observó el aumento del nivel de HDL (39,2 frente a 53,4 mg/dl) (36,2%) después de 2 semanas de terapia. Se observó la reducción significativa de la relación TG/HDL (13,9 frente a 5,8).

20



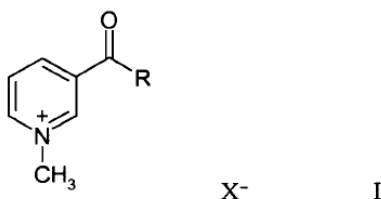
## REIVINDICACIONES

1. Uso de sales de piridinio cuaternario de la fórmula I:



- 5 en donde R es NH<sub>2</sub> o CH<sub>3</sub>, y X es un contraión farmacéuticamente aceptable,
- para la preparación de un agente vasoprotector para el tratamiento o prevención de afecciones o enfermedades asociadas con disfunción del endotelio vascular, agresión oxidativa y/o producción insuficiente de prostaciclina endotelial PGI<sub>2</sub>, en donde dicha afección o enfermedad se selecciona de:
- 10
- aterosclerosis; aterosclerosis en pacientes con enfermedad coronaria crónica, episodio cerebrovascular isquémico o arterioesclerosis de las extremidades, incluyendo tromboangitis obliterante;
  - 15 - hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia o nivel bajo de HDL;
  - trombosis no relacionada directamente con aterosclerosis, en particular trombosis asociada con el implante de prótesis vasculares metálicas (stents), cirugía de derivación coronaria-aortica (CABG), hemodiálisis, enfermedad tromboembólica venosa;
  - 20 - factores de riesgo para aterosclerosis seleccionados del grupo que consiste en: hipercolesterolemia, hipertensión arterial, hiperhomocisteinemia, obesidad, tensión nerviosa, infecciones, vasculopatía por aloinjerto y tolerancia a nitrato; o
  - 25 - un grupo que consiste en lo siguiente: insuficiencia cardiaca crónica, hipertensión pulmonar, síndrome nefrótico, insuficiencia renal crónica, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), fibrosis quística, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), preeclampsia/eclampsia, disfunción eréctil, síndrome de Stein-Leventhal, apnea del sueño, lupus eritematoso sistémico, anemia falciforme, úlceras gástricas o duodenales, glaucoma, enfermedad hepática crónica, en particular hepatitis vírica, amiloidosis primaria.
- 30
2. El uso según la reivindicación 1 en donde dicha afección o enfermedad es aterosclerosis.
3. El uso según la reivindicación 1 en donde dicha afección o enfermedad es aterosclerosis en pacientes con enfermedad coronaria crónica, episodio cerebrovascular isquémico o arterioesclerosis de las extremidades,
- 35 incluyendo tromboangitis obliterante.
4. El uso según la reivindicación, en donde dicha afección o enfermedad se selecciona del grupo de factores de riesgo para aterosclerosis que consiste en los siguientes: hipercolesterolemia, hipertensión arterial, hiperhomocisteinemia, obesidad, tensión nerviosa, infecciones, vasculopatía por aloinjerto y tolerancia a nitrato.
- 40
5. El uso según la reivindicación 1, en donde dicha afección o enfermedad es dislipidemia, en particular hipercolesterolemia o hipertrigliceridemia en particular asociada con bajo nivel en plasma de HDL.
- 45
6. El uso según la reivindicación 1, en donde dicha afección o enfermedad es trombosis no relacionada directamente con aterosclerosis, en particular trombosis asociada con el implante de prótesis vasculares metálicas (stents), cirugía de derivación coronaria-aortica (CABG), hemodiálisis, enfermedad tromboembólica venosa.
- 50
7. El uso según la reivindicación 1, en donde dicha afección o enfermedad se selecciona del siguiente grupo: insuficiencia cardiaca crónica, hipertensión pulmonar, síndrome nefrótico, insuficiencia renal crónica, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), fibrosis quística, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), preeclampsia/eclampsia, disfunción eréctil, síndrome de Stein-Leventhal, apnea del sueño, lupus eritematoso sistémico, anemia falciforme, úlceras gástricas o duodenales, glaucoma, enfermedad hepática crónica, en particular hepatitis vírica, amiloidosis primaria.
- 55
8. El uso según la reivindicación 7, en donde dicha afección o enfermedad es enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

9. El uso según la reivindicación 7, en donde dicha afección o enfermedad es enfermedad hepática crónica, en particular hepatitis vírica.
- 5 10. El uso según la reivindicación 7, en donde dicha enfermedad es úlcera gástrica o duodenal.
11. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde dicho agente vasoprotector está en una forma para administración oral.
- 10 12. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde dicho agente vasoprotector está en una forma para administración parenteral.
13. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en donde dicho agente vasoprotector está en una forma para administración a las vías respiratorias mediante inhalación.
- 15 14. El uso según la reivindicación 1, en donde dicha afección o enfermedad es enfermedad pulmonar obstructiva crónica y el medicamento está en la forma para la administración por inhalación.
15. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde R es CH<sub>3</sub>.
- 20 16. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde R es NH<sub>2</sub>.
17. El uso según la reivindicación 1 en donde dicha sal de piridinio cuaternario es una sal de 1-metilnicotamida y dicha afección o enfermedad es hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia o nivel bajo de HDL.
- 25 18. Uso de sales de piridinio cuaternario de la fórmula I:



30 en donde R es NH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> o el grupo N(H)CH<sub>2</sub>OH, y X es un contraión farmacéuticamente aceptable, para la preparación de un agente vasoprotector para el tratamiento o prevención de afecciones o enfermedades asociadas con disfunción del endotelio vascular, agresión oxidativa y/o producción insuficiente de prostaciclina endotelial PGI<sub>2</sub>, en donde dicha afección o enfermedad se selecciona de:

- aterosclerosis;

35 - aterosclerosis en pacientes con enfermedad coronaria crónica, episodio cerebrovascular isquémico o arterioesclerosis de las extremidades, incluyendo tromboangitis obliterante;

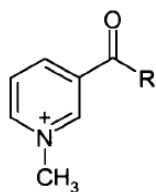
- hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia o nivel bajo de HDL;

40 - trombosis no relacionada directamente con aterosclerosis, en particular trombosis asociada con el implante de prótesis vasculares metálicas (stents), cirugía de derivación coronaria-aortica (CABG), hemodiálisis, enfermedad tromboembólica venosa;

45 - factores de riesgo para aterosclerosis seleccionados del grupo que consiste en los siguientes: hipertensión arterial, hiperhomocisteinemia, obesidad, tensión nerviosa, vasculopatía por aloinjerto y tolerancia a nitrato; o

50 - un grupo que consiste en lo siguiente: insuficiencia cardiaca crónica, hipertensión pulmonar, síndrome nefrótico, insuficiencia renal crónica, síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), fibrosis quística, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), preeclampsia/eclampsia, disfunción eréctil, síndrome de Stein-Leventhal, apnea del sueño, lupus eritematoso sistémico, anemia falciforme, úlceras gástricas o duodenales, glaucoma, enfermedad hepática crónica, en particular hepatitis vírica, amiloidosis primaria.

19. Uso de sales de piridinio cuaternario de la fórmula I:



X<sup>-</sup> I

en donde R es NH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub> o el grupo N(H)CH<sub>2</sub>OH, y X es un contraión aceptable para el consumo, para la preparación de una preparación nutricional para la protección en mamíferos en estados o enfermedades asociadas con disfunción del endotelio vascular, agresión oxidativa y/o producción insuficiente de prostaciclina endotelial (PGI<sub>2</sub>) en donde dicha afección o enfermedad se selecciona de:

- 5 - aterosclerosis;
- 10 - aterosclerosis en pacientes con enfermedad coronaria crónica, episodio cerebrovascular isquémico o arterioesclerosis de las extremidades, incluyendo tromboangitis obliterante;
- hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia o nivel bajo de HDL;
- 15 - trombosis no relacionada directamente con aterosclerosis, en particular trombosis asociada con el implante de prótesis vasculares metálicas (stents), cirugía de derivación coronaria-aortica (CABG), hemodiálisis, enfermedad tromboembólica venosa; o
- 20 - factores de riesgo para aterosclerosis seleccionados del grupo que consiste en los siguientes: hipertensión arterial, hiperhomocisteinemia, obesidad, tensión nerviosa, vasculopatía por aloinjerto y tolerancia a nitrato.
20. El uso según la reivindicación 19, en donde dicha afección o enfermedad es aterosclerosis en pacientes con enfermedad coronaria crónica, episodio cerebrovascular isquémico o arterioesclerosis de las extremidades, incluyendo tromboangitis obliterante.
- 25 21. El uso según la reivindicación 19, en donde dicha afección o enfermedad se selecciona del grupo de factores de riesgo para aterosclerosis que consiste en los siguientes: hipertensión arterial, hiperhomocisteinemia, obesidad, tensión nerviosa, vasculopatía por aloinjerto y tolerancia a nitrato.
- 30 22. El uso según la reivindicación 19, en donde dicha afección o enfermedad es dislipidemia, en particular hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia en particular asociada con bajo nivel en plasma de HDL.
- 35 23. El uso según la reivindicación 19, en donde dicha afección o enfermedad es trombosis no relacionada directamente con aterosclerosis, en particular trombosis asociada con el implante de prótesis vasculares metálicas (stents), cirugía de derivación coronaria-aortica (CABG), cualquier tipo de cirugía con circulación extracorpórea, hemodiálisis, enfermedad tromboembólica venosa.
- 40 24. El uso según la reivindicación 19, en donde la producción deficiente de prostaciclina endotelial está relacionada con la edad.
25. El uso según las reivindicaciones 19 a 24, en donde R es CH<sub>3</sub>.
26. El uso según las reivindicaciones 19 a 24, en donde R es NH<sub>2</sub>.
- 45 27. El uso según las reivindicaciones 19 a 24, en donde R es N(H)CH<sub>2</sub>OH.
28. El uso según la reivindicación 19, en donde dicha sal de piridinio cuaternario es una sal de 1-metilnicotinamida y dicha afección o enfermedad es hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia o nivel bajo de HDL.

Figura 1. Esquema del método para la detección de la acción trombolítica de fármacos *in vivo* en ratas (según Gryglewski y col.).

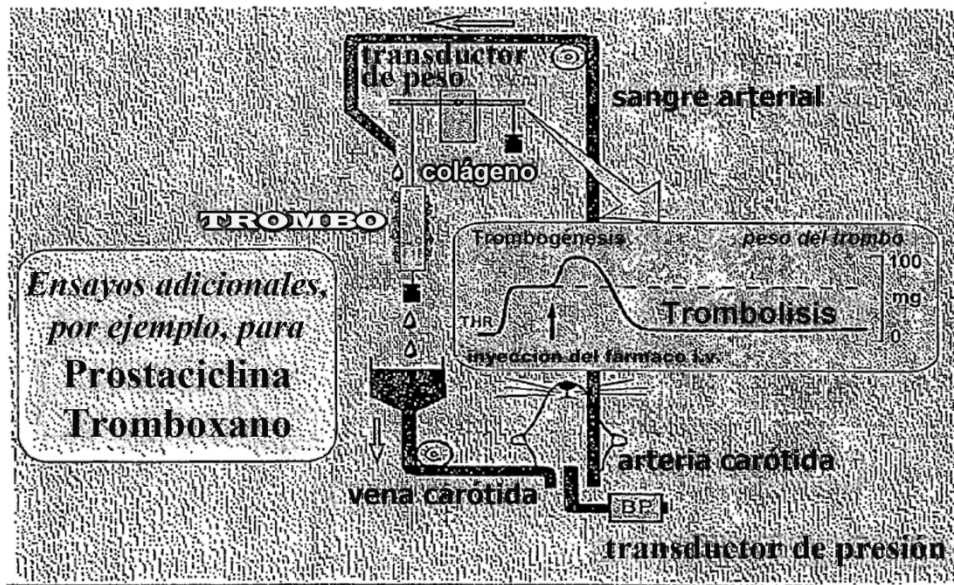


Figura 2. Respuesta trombolítica *in vivo* inducida por la administración intravenosa de MNA<sup>+</sup> (30 mg/kg).

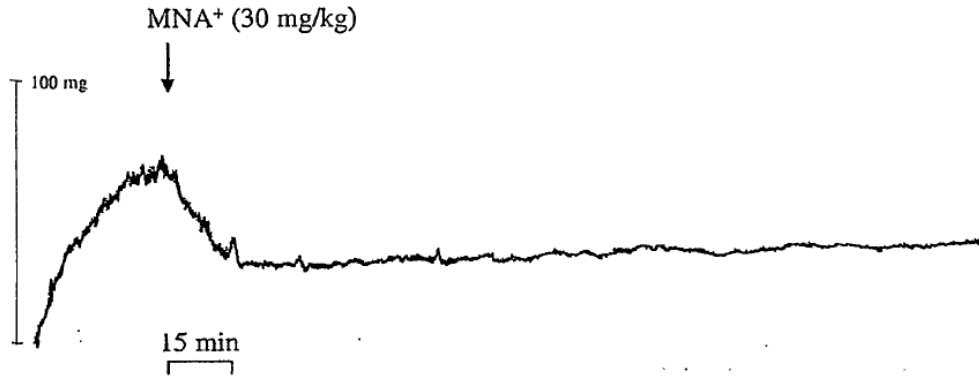


Figura 3. Cambios en los niveles en plasma de 6-ceto-PGF<sub>1α</sub> (•) y TXB<sub>2</sub> (◊) después de la administración intravenosa de MNA<sup>+</sup> (30 mg/kg).

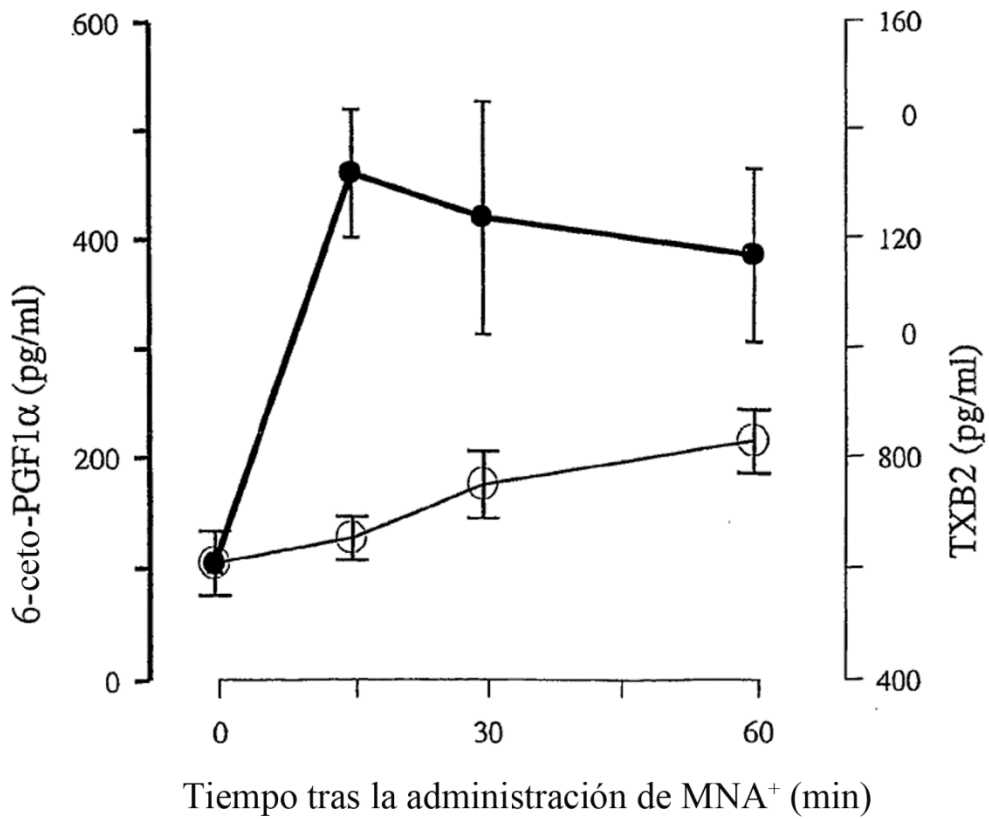


Figura 4. Falta de respuesta trombolítica después de la administración intravenosa de nicotinamida o ácido nicotínico (30 mg/kg).

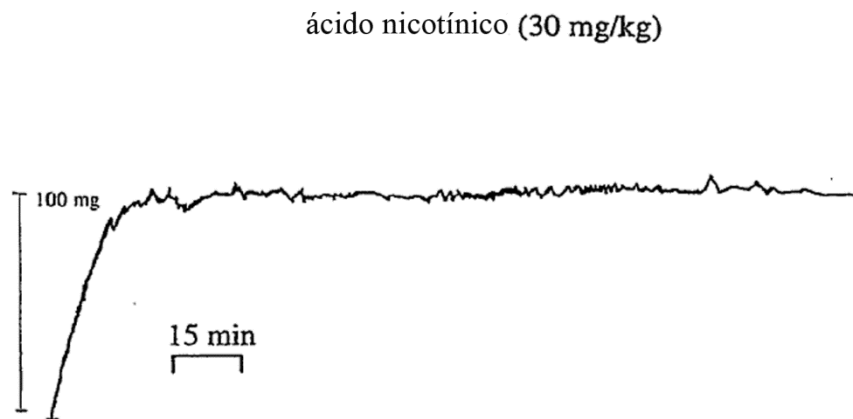
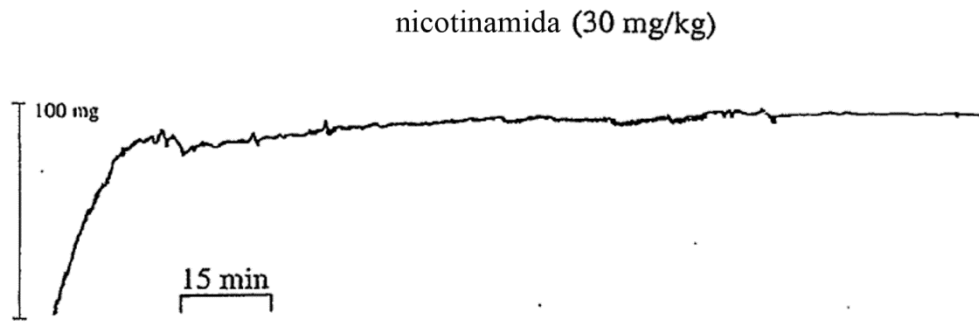


Figura 5. Falta de respuesta trombolítica después de la administración intravenosa de 2-PYR o trigonelina (30 mg/kg).

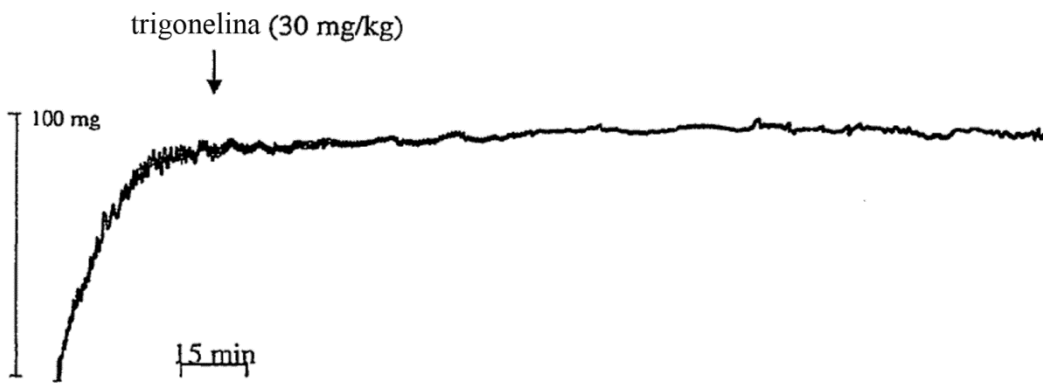
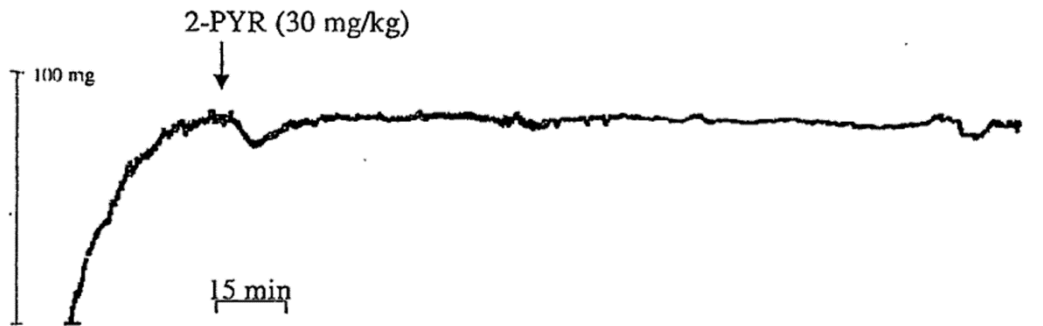


Figura 6. Respuesta trombolítica inducida por la administración intravenosa de MAP<sup>+</sup> (30 mg/kg).

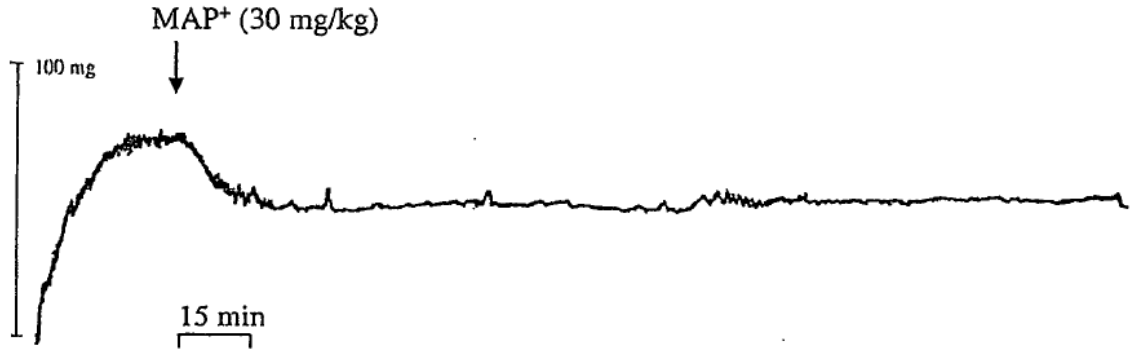


Figura 7. Cambios en los niveles en plasma de 6-ceto-PGF<sub>1α</sub> (•) y TXB<sub>2</sub> (◊) después de la administración intravenosa de MAP<sup>+</sup> (30 mg/kg).

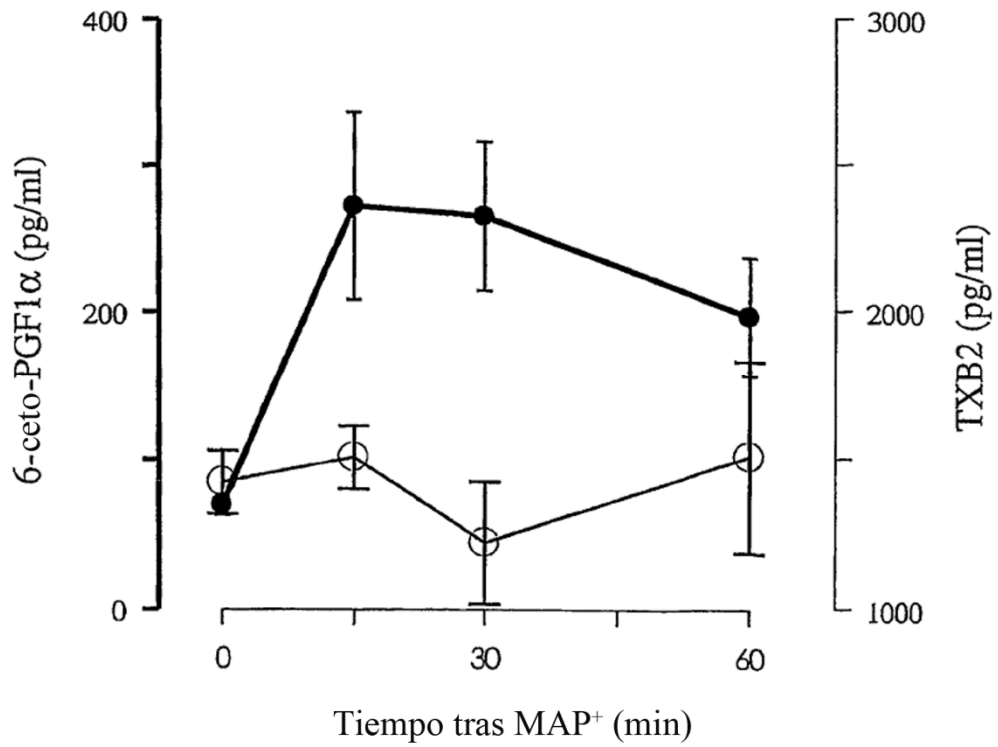




Figura 8. Respuesta trombolítica inducida por la administración intravenosa de MNAF<sup>+</sup> (30 mg/kg).

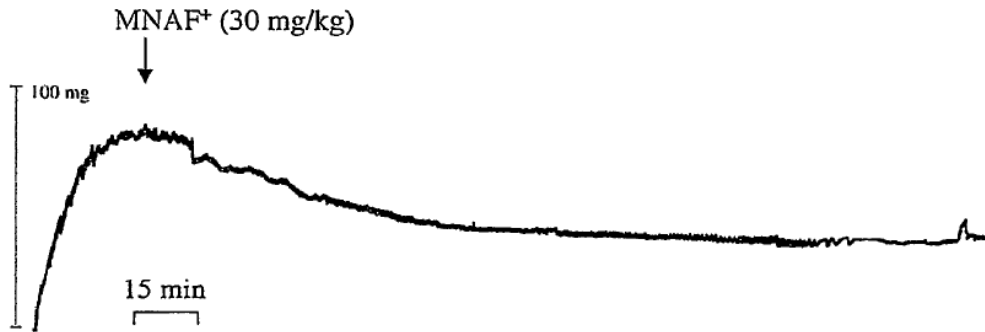


Figura 9. Falta de efecto de  $MNA^+$  sobre la agregación de plaquetas inducida por colágeno.

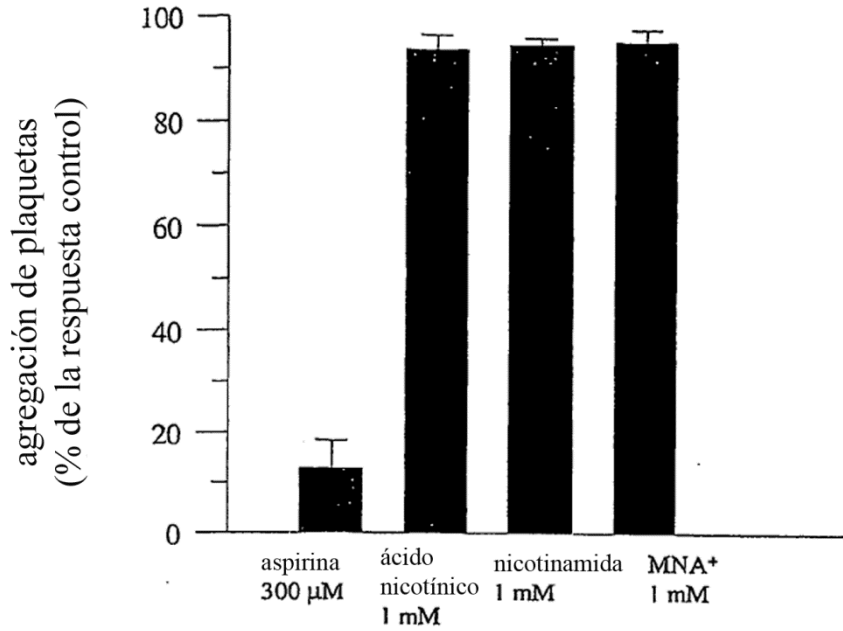


Figura 10. Falta de efecto de  $MNA^+$  sobre la activación de neutrófilos inducida por látex.

