

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 384 668**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/519** (2006.01)  
**A61K 9/14** (2006.01)  
**A61K 9/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **08766063 .5**  
96 Fecha de presentación: **03.06.2008**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2167093**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **31.03.2010**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas para el tratamiento de la insuficiencia cardiaca crónica, que comprenden un compuesto derivado de la pirazolopirimidinona**

30 Prioridad:  
**09.06.2007 KR 20070056392**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**10.07.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**10.07.2012**

73 Titular/es:  
**DONG-A PHARMACEUTICAL CO., LTD.  
252 YONGDU-DONG DONGDAEMUN-KU  
SEOUL 130-072, KR**

72 Inventor/es:  
**SHIN, Jee-Hyun;  
AHN, Gook-Jun;  
KANG, Kyung-Koo;  
AHN, Byoung-Ok y  
YOO, Moo-Hi**

74 Agente/Representante:  
**Curell Aguilá, Mireia**

ES 2 384 668 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

Composiciones farmacéuticas para el tratamiento de la insuficiencia cardiaca crónica, que comprenden un compuesto derivado de la pirazolopirimidinona.

### Campo técnico

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica para tratar la insuficiencia cardiaca crónica (CHF) que incluye, como principio activo efectivo, 5-[2-propiloxi-5-(1-metil-2-pirrolidinil-etil-amidosulfonil)fenil]-1-metil-3-propil-1,6-dihidro-7H-pirazolo(4,3-d)-pirimidina-7-ona.

### Antecedentes de la técnica

El corazón consta de cuatro cavidades, dos aurículas (cavidades superiores) y dos ventrículos (cavidades inferiores), y cuatro válvulas principales. Cuando el corazón late, la aurícula derecha recibe la sangre venosa corporal. Ésta atraviesa entonces la válvula tricúspide hacia el ventrículo derecho. A la vez, la sangre oxigenada en los pulmones fluye hacia la aurícula izquierda, atravesando entonces la válvula mitral hacia el ventrículo izquierdo. La contracción del ventrículo derecho propulsa la sangre recogida en la aurícula derecha hacia los pulmones, en los que la sangre venosa extrae oxígeno. La sangre oxigenada vuelve a la aurícula izquierda y fluye hacia abajo al ventrículo izquierdo. Éste se contrae para empujar la sangre hacia el organismo. De las cuatro válvulas cardiacas, dos de ellas evitan que la sangre fluya contracorriente entre una aurícula y un ventrículo, evitando las otras dos válvulas el flujo contracorriente de la sangre entre un ventrículo y una arteria. El corazón late para suministrar sangre a todo el organismo. La sangre bombeada desde el corazón, circula en el organismo para suministrar oxígeno y nutrientes a los tejidos y transportar los productos de desecho fuera de éstos. El volumen de la sangre expelida por el corazón con cada latido, varía dependiendo de la actividad física. Se requiere un volumen relativamente pequeño de sangre durante el tiempo que se está en reposo, mientras que para el ejercicio, es necesario un gran volumen. De esta forma, el corazón late lenta o rápidamente según la demanda de sangre, llevando a la relajación y contracción de los vasos sanguíneos.

La insuficiencia cardiaca es un estado patofisiológico en el que el corazón pierde su capacidad de bombear una cantidad suficiente de sangre para cubrir las necesidades tisulares del organismo, y tiene como causa diversos factores. Cuando el músculo cardiaco no puede contraerse o relajarse con suficiente fuerza, la circulación sanguínea resulta dificultosa, y un volumen sanguíneo más grande se acumula en cada cavidad del corazón y de los pulmones. Cuando esto sucede, el corazón intenta compensar esta situación agrandándose para bombear más sangre a los tejidos u órganos. Cuando esta situación es duradera, el esfuerzo compensatorio alcanza su límite, provocando problemas más graves. En particular, al estado en el que la capacidad de bombeo del corazón se debilita gradualmente, se le denomina insuficiencia cardiaca crónica. Los procedimientos del organismo para compensar esta situación incluyen una elevación del pulso, agrandamiento cardiaco (dilatación) y retención de líquidos. Ya que la descompensación cardiaca se acompaña de congestión, se alude también a la insuficiencia cardiaca crónica como insuficiencia cardiaca congestiva.

Según la American Heart Association, la insuficiencia cardiaca afecta a alrededor de cinco millones de americanos, diagnosticándose cada año 550.000 nuevos casos. Asimismo, aproximadamente 1% de los individuos de 50 años de edad o mayores, y aproximadamente 5% de los que tienen más de 75 años o más, presentan insuficiencia cardiaca. Aproximadamente 10% de los pacientes diagnosticados de insuficiencia cardiaca mueren a causa de ella en el plazo de un año, produciéndose la defunción del 50% de los pacientes en el plazo de cinco años.

La insuficiencia cardiaca crónica puede tener como causa algunas patologías, considerándose que éstas constituyen las causas principales de la disminución de la función cardiaca. Sin embargo, otros factores pueden contribuir al desarrollo de la insuficiencia cardiaca en pacientes que han vivido relativamente bien durante largo tiempo, incluso si han padecido una enfermedad que provoque la insuficiencia cardiaca. Las causas habituales de la insuficiencia cardiaca incluyen una pre- y postcarga excesiva, el flujo sanguíneo alterado hacia los ventrículos, una función cardiaca defectuosa provocada por la isquemia miocárdica, y la patología miocárdica primaria. Los factores que contribuyen a la insuficiencia cardiaca incluyen la endocarditis infecciosa, la miocarditis aguda, la hipertensión incontrolada, el infarto miocárdico agudo, el embolismo pulmonar, diversas infecciones, anemia, hipertiroidismo, embarazo, estrés físico y mental, consumo excesivo de alcohol, e ingestión alimentaria excesiva.

Los síntomas del fallo cardiaco varían dependiendo de la gravedad de la enfermedad, pero el síntoma más habitual es la respiración dificultosa. Ésta se presenta sólo durante el ejercicio en las etapas tempranas, pero se produce incluso sin actividad física cuando la insuficiencia cardiaca se agrava. Cuando alguien está acostado, la respiración resulta más dificultosa debido a la diferencia en el volumen de la sangre que penetra en el corazón. Otros síntomas incluyen tos, estertores secos pulmonares, palpitaciones, náuseas, confusión, enuresis, oliguria, edema sistémico, ascitis, malestar superior abdominal, dolor e hinchazón, comienzo rápido del cansancio, y debilidad general.

La insuficiencia cardiaca se diagnostica mediante examen físico, que se basa en la historia personal y familiar, o mediante la evaluación de anormalidades en el ventrículo izquierdo o en las válvulas. Se llevan a cabo la

electrocardiografía, la ecocardiografía y la cateterización cardiaca para evaluar la función del corazón y detectar la patología arterial coronaria y el infarto miocárdico.

5 El tratamiento de la insuficiencia cardiaca crónica se realiza con la eliminación de los factores coadyuvantes, el tratamiento de las enfermedades como causas fundamentales, la reducción de la sal en la dieta, la reducción de las precargas utilizando diuréticos, y la reducción de las postcargas utilizando vasodilatadores. La digoxina o las aminas simpatomiméticas que actúan para aumentar la contractibilidad miocárdica, son útiles también en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca crónica.

10 Los vasodilatadores, tales como los inhibidores de enzima convertidora de la angiotensina (ACE), nitratos, y la hidralazina, se emplean primariamente para tratar la insuficiencia cardiaca crónica. La tiazida o los diuréticos del asa de Henle pueden administrarse en los estadios tempranos de la terapia, porque pueden reducir la retención de líquidos. Los glicósidos digitálicos se han utilizado también para tratar la insuficiencia cardiaca. Se ha informado que los bloqueadores beta, tales como el carvedilol, el metoprolol y el bisoprolol, son efectivos en la insuficiencia cardiaca crónica.

15 Los inhibidores ACE activan cGMP, que induce la relajación de los músculos lisos vasculares, para agrandar los vasos sanguíneos arteriales. De los inhibidores ACE, enalapril, captopril y lisinopril aumentan las tasas de supervivencia de pacientes con insuficiencia cardiaca crónica, y quinapril y fosinopril alivian los síntomas en  
20 pacientes con disfunción del ventrículo izquierdo. De esta forma, los inhibidores ACE reducen la morbilidad y la mortalidad de pacientes con la insuficiencia cardiaca, debida a la disfunción del ventrículo izquierdo, utilizándose de esta forma para tratar la insuficiencia cardiaca crónica. De este modo, el losartan, que actúa en el sistema renina-angiotensina (RAS), se espera que tenga efectos terapéuticos sobre la insuficiencia cardiaca, habiendo los ensayos clínicos, hasta la fecha, demostrado su eficacia terapéutica en la insuficiencia cardiaca crónica. Sin embargo, el uso  
25 de losartan se restringe en caso de pacientes con hipotensión, pudiendo afectar a la función renal y a los niveles de potasio en el organismo. La tos crónica se observa en el 10% de pacientes. Igualmente, otros efectos secundarios incluyen mareos debido a la baja presión sanguínea, erupciones dérmicas, e hinchamiento repentino de labios y mejillas.

30 Los bloqueadores del receptor de la angiotensina II se utilizan en pacientes que no pueden tolerar los efectos secundarios de los inhibidores ACE. Mejoran los síntomas de la insuficiencia cardiaca mediante un mecanismo de acción similar al de los inhibidores ACE. Se encuentran en curso ensayos para examinar si los bloqueadores del receptor II de la angiotensina II pueden utilizarse en combinación con los inhibidores ACE. Los bloqueadores del receptor de la angiotensina II no provocan efectos secundarios graves cuando se administran en una dosis nunca al  
35 día, pero raramente causan deterioro de la función renal.

Se ha conocido que los bloqueadores beta empeoran los síntomas de la insuficiencia cardiaca, pero también se considera que poseen efectos terapéuticos beneficiosos. Ayudan a relajar el músculo cardiaco, debilitando la contractibilidad miocárdica, y reducen carga cardiaca adicional. Los betabloqueantes más utilizados habitualmente  
40 son el carvedilol y el metoprolol, que poseen acciones beneficiosas para evitar que la insuficiencia cardiaca progrese, acortan la hospitalización, y reducen la mortalidad. Los betabloqueantes deberán administrarse partiendo de una dosis baja, debiéndose éste aumentar gradualmente durante un período largo de varios meses. Durante varias semanas después de la administración, los síntomas empeoran debido a que el suministro de oxígeno al organismo disminuye. Otros efectos secundarios incluyen hipotensión, dificultad para respirar y náuseas.

45 Además de los medicamentos anteriormente mencionados, se utilizan para tratar la insuficiencia cardiaca los inhibidores de la fosfodiesterasa III, los antiarrítmicos de tipo III tales como la amiodarona, los desfibriladores implantables generadores de impulsos eléctricos mediante batería, (ICD), y los bloqueadores de los canales de calcio (CCB), tales como la anlodipina y la felodipina. Los ICD, que todavía se están estudiando, se han permitido  
50 sólo utilizar en un grupo de alto riesgo, y los CCB se han utilizado en pacientes que muestran otras indicaciones para la terapia CCB.

Los inhibidores de la fosfodiesterasa V (PDE-5) han demostrado que inhiben el agrandamiento, remodelado y fibrosis del músculo ventricular en los ratones en los que se indujo una sobrecarga de la presión mediante sildenafil (Nature Medicine 2005 11(2):214-222). Se ha conocido que los efectos de los inhibidores PDE-5 se han obtenido mediante un mecanismo que implica el bloqueo de la actividad de PDE-5, catalizando la fragmentación de la monofosfatasa cíclica de guanosina (cGMP), que se acopla con un sistema intrínseco señalético en el corazón, de forma que inhibe las respuestas proliferativas miocárdicas (Journal of Biological Chemistry 2003 278:47694-47699).

60 Estos inventores desarrollaron anteriormente a esta solicitud la 5-[2-propiloxi-5-(1-metil-2-pirrolidinil-etil-amidosulfonil)fenil]-1-metil-3-propil-1,6-dihidro-7H-pirazolo(4,3-d)pirimidina-7-ona, denominándose el compuesto "undenafil", y se informó de que el compuesto tiene el efecto de inhibir la actividad PDE-5 (patente coreana, nº de registro 0353014).

65 Los inventores de esta solicitud llevaron a cabo investigaciones posteriores sobre el compuesto, que dieron lugar a nuevos hallazgos de que el compuesto undenafil (al que en la presente memoria también se hace referencia como

“un derivado pirazolopirimidinónico”) evita el agrandamiento de la cavidad ventricular y el engrosamiento de la pared de ésta en la insuficiencia cardiaca crónica. Los hallazgos incluyen además que el derivado pirazolopirimidinónico suprime la expresión ventricular del RNAm del péptido natriurético auricular (ANP), reduciendo la cantidad depositada del colágeno, como marcador de la fibrosis ventricular en los ventrículos los cuales hallazgos conducen a la presente invención.

## Exposición

### Problemas técnicos

Por tanto, un objetivo de la presente invención consiste en proporcionar una composición farmacéutica que incluye un derivado pirazolopirimidinónico como principio activo para una nueva utilización del compuesto, en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca crónica.

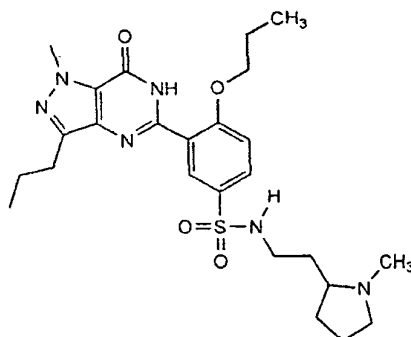
Otro objetivo de la presente invención consiste en proporcionar una composición farmacéutica para mejorar la función cardiaca deprimida, mediante la supresión de cambios morfológicos en los corazones con insuficiencia cardiaca crónica, reduciendo los niveles del péptido natriurético auricular (ANP) e inhibiendo la fibrosis ventricular.

Otro objetivo de la presente invención consiste en proporcionar una composición farmacéutica para tratar la insuficiencia cardiaca crónica, que comprende, como principio activo efectivo, un derivado pirazolopirimidinónico, que presenta buenos perfiles farmacocinéticos y de seguridad, comparados con los inhibidores convencionales de la fosfodiesterasa-5 (PDE-5).

### Solución técnica

Con el fin de cumplir con los objetivos anteriores, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que incluye, como principio activo efectivo, el 5-[2-propiloxi-5-(1-metil-2-pirrolidinil-etil-amidosulfonil)fenil]-1-metil-3-propil-1,6-dihidro-7H-pirazolo(4,3-d)pirimidina-7-ona (al que la presente Memoria también se hace referencia como “un derivado pirazolo pirimidinónico”) representado por la fórmula química 1 que se expresa a continuación, para la nueva utilización del compuesto en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca crónica.

[ Fórmula química 1 ]



### Efectos ventajosos

Según la presente invención, la composición farmacéutica que incluye el derivado pirazolopirimidinónico como principio activo efectivo, suprime los cambios morfológicos en los corazones afectados de insuficiencia cardiaca crónica. Asimismo, esta composición reduce los niveles circulantes del péptido natriurético auricular (ANP), que están elevados en el estado patofisiológico de la insuficiencia cardiaca crónica, y suprime la expresión cardiaca del ARNm ANP, siendo útil, por tanto, como agente terapéutico para la insuficiencia cardiaca. Además, la presente composición inhibe la fibrosis cardiaca, mejorando de este modo la función cardiaca sistólica y diastólica.

De igual forma, el derivado pirazolopirimidinónico presenta una larga vida media biológica *in vivo*, lo que, permitiendo una frecuencia más baja de administración, hace que se alcance el máximo nivel plasmático en corto tiempo, lo cual da lugar a menos efectos inherentes secundarios, implica un peligro menor de interacción con otros medicamentos, y posee un margen más amplio de seguridad.

### Descripción de las figuras

La fig. 1 es un gráfico que muestra que un derivado pirazolopirimidinónico según la presente invención reduce los niveles séricos de ANP.

La fig. 2 es un gráfico que muestra que un derivado pirazolopirimidinónico según la presente invención reduce los niveles del ARNm ANP en el tejido ventricular, y la fig. 3 es una gráfica que muestra que un derivado

pirazolopirimidinónico según la presente invención reduce la cuantía de la deposición del colágeno en el tejido ventricular.

**[Mejor modo de poner en práctica la invención]**

5 El derivado pirazolopirimidinónico según la presente invención, que es un inhibidor de la fosfodiesterasa-5 (PDE-5), muestra una actividad inhibitoria intensa y selectiva contra PDE-5, se absorbe rápidamente debido a su solubilidad potenciada, posee una alta biodisponibilidad y un gran volumen de distribución y una semivida biológica *in vivo* tres veces superior a la de un medicamento que actúa mediante idéntico mecanismo, el sildenafil.

10 El derivado pirazolopirimidinónico presenta las siguientes propiedades físico-químicas: es difícil de disolver en agua, pero se disuelve rápidamente en ácido acético, metanol y cloroformo; presenta una temperatura de fusión de 158-161°C; posee un valor pKa<sub>1</sub> de aproximadamente 6,5 y un valor pKa<sub>2</sub> de aproximadamente 12,5; y no es un hidrato o un solvato, sino que es un polvo blanco o blanco brillante.

15 El derivado pirazolopirimidinónico se sintetiza mediante un procedimiento en tres etapas, de la forma siguiente.

Brevemente la primera etapa consiste en preparar un 4-[2-propiloxi-5-(clorosulfonil)benzamido]-1-metil-3-propil-5-carbamoilpirazol. El 4-[2-propiloxi benzamido]-1-metil-3-propil-5-carbamoil pirazol se mezcla con una cantidad predeterminada de ácido clorosulfónico, y se enfría a 0°C. La mezcla se filtra, y el filtrado se lava y seca para producir 4-[2-propiloxi-5-(cloro-sulfonil)benzamido]-1-metil-3-propil-5-carbamoil pirazol.

20 La segunda etapa consiste en preparar 4-[2-propiloxi-5-(1-metil-2-pirrodiniletil amidosulfonil)benzamido]-1-metil-3-propil-5-carbamoil pirazol, a partir del compuesto pirazólico obtenido en la fase anterior. Una cantidad predeterminada de una solución diclorometano del 4-[2-propiloxi-5-(clorosulfonil)benzamido]-1-metil-3-propil-5-carbamoil pirazol, preparada en la primera etapa, se mezcla con una cantidad predeterminada de 2-(2-aminoetil-1-metil pirrolidina, agitando a 0°C. Después de que la reacción tiene lugar, la mezcla reactiva se diluye en diclorometano. Una fase orgánica se lava, seca, concentra y filtra para producir 4-[2-propiloxi-5-(1-metil-2-pirrodiniletilamido-sulfonil)benzamido]-1-metil-3-propil-5-carbamoil pirazol.

25 La tercera etapa consiste en preparar el compuesto de la presente invención, 5-[2-propiloxi-5-(1-metil-2-pirrolidiniletil-amidosulfonil)fenil]-1-metil-3-propil-1,6-dihidro-7H-pirazolo(4,3-d)pirimidina-7-ona), a partir del compuesto obtenido en la segunda etapa. Una cantidad predeterminada del compuesto pirazólico sintetizado en la segunda etapa, se disuelve en t-butanol y se mezcla con una cantidad predeterminada t-butoxido potásico bajo reflujo durante un período de tiempo predeterminado. Después de que la reacción tenga lugar, la mezcla reactiva se enfría, diluye, lava y seca. El producto seco se somete a destilación bajo presión reducida, se elimina mediante disolvente y se somete a cromatografía en columna de gel de sílice para producir un derivado pirazolo pirimidinónico puro, según la presente invención.

40 La presente invención se refiere a una composición farmacéutica para el tratamiento de la insuficiencia cardiaca crónica, pudiéndose describir detalladamente de la forma siguiente.

1) La presente invención proporciona un agente terapéutico que suprime los cambios morfológicos cardíacos provocados por la insuficiencia cardiaca.

2) La presente invención proporciona un agente terapéutico que suprime la expresión del péptido natriurético auricular (ANP), que está elevado en los corazones con insuficiencia, de forma que normaliza los niveles de ANP, y que inhibe la fibrosis ventricular.

3) La presente invención proporciona un agente terapéutico para la insuficiencia cardiaca crónica, que muestra mejores propiedades farmacocinéticas y es más seguro que los inhibidores convencionales de la fosfodiesterasa-5 (PDE-5).

55 El agente terapéutico que incluye el derivado pirazolopirimidinónico según la presente invención, constituye un principio activo efectivo que puede utilizarse en las formas de dosificación farmacéutica generales. Es decir, el derivado pirazolopirimidinónico de la presente invención puede administrarse en una amplia variedad de formas de dosificación orales y parenterales en la aplicación clínica, prefiriéndose la administración oral en la presente invención. Una formulación puede prepararse utilizando generalmente diluyentes o excipientes, tales como rellenos engrasadores, cementantes, humectantes, desintegrantes y surfactantes.

60 Las formulaciones sólidas para la administración oral pueden incluir comprimidos, gránulos, polvos, y cápsulas, y se preparan mezclando el compuesto derivado pirazolopirimidinónico con uno o más excipientes, tales como almidón, carbonato cálcico, sacarosa, lactosa y gelatina. Asimismo, las formulaciones sólidas pueden incluir, además de un único excipiente, un lubricante tal como el estearato de magnesio o el talco.

65

Las formulaciones líquidas para la administración oral pueden incluir suspensiones, soluciones internas, emulsiones y jarabes. Las formulaciones líquidas pueden incluir, además de los diluyentes simples habitualmente utilizados, tales como agua y parafina líquida, diversos excipientes, por ejemplo humectantes, endulzantes, aromáticos y conservantes. Las formulaciones para la administración parental pueden incluir soluciones acuosas estériles, soluciones no acuosas, suspensiones, emulsiones, preparaciones liofilizadas y supositorios. Las soluciones no acuosas y las suspensiones pueden prepararse con propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como aceite de oliva, y ésteres inyectables tales como oleato de etilo. Como base para los supositorios, pueden utilizarse Witepsol, macrogol, Tween 61, aceite de cacao, aceite de laurilo y gelatina glicerizada.

Las dosis de la composición farmacéutica de la presente invención, que comprende el derivado pirazolopirimidinónico como principio activo efectivo, puede variar dependiendo del peso, edad, género y dieta del paciente, del tiempo y forma de administración, de las tasas de excreción, y de la gravedad de la enfermedad. Preferentemente, este compuesto puede administrarse a un adulto con una dosis diaria de 50 a 200 mg. La dosis diaria puede tomarse en una única dosis o puede dividirse en varias dosis.

### [Modos para la invención]

A través de los siguientes ejemplos se pone más claramente de manifiesto la presente invención, proporcionados a título ilustrativo y no limitativo de la presente invención.

**Ejemplo:** Evaluación de los efectos terapéuticos del derivado pirazolopirimidinónico en un modelo animal de insuficiencia cardíaca.

El derivado pirazolopirimidinónico, de la fórmula química 1 según la presente invención, se evaluó para determinar si presentaba un efecto terapéutico en la insuficiencia cardíaca, de la forma siguiente.

Se dividieron al azar ratas macho, Sprague-Dawley, con un peso de 220-240 g, en tres grupos: un grupo control normal (Normal), un grupo control afecto de insuficiencia cardíaca (CHF) y un grupo sometido a tratamiento (CHF + cpd.1), formado cada grupo por siete animales. El derivado pirazolopirimidinónico se administró oralmente a animales del grupo de tratamiento que habían desarrollado insuficiencia cardíaca, a dosis de 30 mg/Kg.

Los animales normales de control se sometieron a una operación quirúrgica de referencia. Los animales de control de la insuficiencia cardíaca y los grupos de tratamiento fueron sometidos a una incisión quirúrgica abdominal con objeto de crear una fístula abdominal aorta-vena cava, de modo que aumentara artificialmente el flujo sanguíneo desde la vena cava inferior a la aurícula derecha. Después de 8 semanas, se administraron oralmente 5 ml/Kg de un disolvente a los grupos normales de control y a los grupos de control de la insuficiencia cardíaca, durante 8 semanas, administrándose oralmente el derivado pirazolopirimidinónico al grupo de tratamiento a una dosis de 30 mg/Kg durante 8 semanas. Entonces, las ratas se anestesiaron con pentobarbital (50 mg/Kg, vía intraperitoneal), y se sometieron a ecocardiografía en modo M para evaluar el grosor de la pared del septo interventricular (IWT) en la telesístole (S) y telediástole (D) del ventrículo izquierdo, el grosor de la pared ventricular izquierda posterior (PWT), y la dimensión telesistólica ventricular izquierda (LVEDS), y la dimensión telediastólica ventricular izquierda (LVEDD). El grosor relativo de la pared (RWT) se calculó según la ecuación  $[IWT(D)+PWT(D)]/LVEDD$ , y se proporciona en la Tabla 1, a continuación.

Después de las mediciones ecocardiográficas se recogieron muestras sanguíneas a partir de las aortas abdominales, para preparar muestras séricas. Se determinaron los niveles séricos del péptido natriurético auricular (ANP), que se muestran en la Fig. 1. 100 mg de cada uno de los tejidos del ventrículo izquierdo se guardaron en nitrógeno líquido y se sometieron entonces a RT-PCR para evaluar los niveles del ARNm ANP. Los niveles del ARNm ANP que se midieron, se muestran en la figura 2. Las partes restantes de los tejidos se fijaron en formalina al 10%, tiñéndose con la tricromía de Masson para detectar las fibras de colágeno, con objeto de evaluar la fibrosis del ventrículo izquierdo, mostrándose los resultados en la figura 3. Todos los valores se expresan como promedios  $\pm$  SD (SD = desviación estándar).

Tal como se muestra en la Tabla 1, las imágenes ecocardiográficas en modo M de eje corto, muestran que las ratas en las que se indujo una insuficiencia cardíaca crónica (grupo CHF), muestran unas dimensiones telediastólicas y telesistólicas del ventrículo izquierdo significativamente mayores que las de las ratas normales de control, indicando dicho aumento una dilatación ventricular, que constituye un sistema típico de la insuficiencia cardíaca. El grosor de la pared del septo interventricular telesistólico y el grosor sistólico y diastólico de la pared posterior del ventrículo izquierdo fueron significativamente más pequeños, resultando esta disminución del agrandamiento de la cavidad ventricular en el estrechamiento de la pared ventricular, lo que indica un cambio cardíaco clínicamente significativo. El grosor relativo de la pared, calculado utilizando la ecuación anterior, disminuyó también significativamente, estando estos resultados de acuerdo con las alteraciones anteriormente mencionadas.

En la fístula aorta-cava, las ratas que recibieron el derivado pirazolopirimidinónico durante un tiempo de 8 semanas (grupo de tratamiento), las dimensiones telediastólicas y telesistólicas del ventrículo izquierdo disminuyeron significativamente, comparadas con las de las ratas de control que mostraban insuficiencia cardíaca (grupo CHF).

Estos resultados indican que la dilatación ventricular, encontrada en la insuficiencia cardiaca crónica, fue inhibida administrando el derivado pirazolopirimidinónico. Asimismo, el grosor de la pared del septo interventricular telesistólico y telediastólico y el grosor de la pared posterior del ventrículo izquierdo aumentaron significativamente, creciendo también el grosor relativo de la pared, comparado con el grupo de control de la insuficiencia cardiaca.

5 Estos resultados indican que el derivado pirazolopirimidinónico inhibe la dilatación ventricular y provoca una disminución en el grosor de la pared ventricular.

La Fig. 1 muestra los niveles séricos del péptido natriurético auricular (ANP). El grupo de control de la insuficiencia cardiaca crónica mostró significativamente un aumento en los niveles de ANP sérico ( $0,040 \pm 0,004$  ng/ml), comparado con el grupo de control normal ( $0,029 \pm 0,003$  ng/ml). Este aumento se redujo significativamente en las ratas que recibieron el derivado pirazolopirimidinónico ( $0,033 \pm 0,003$  ng/ml).

10

La Fig. 2 muestra los niveles ARNm ANP en los tejidos del ventrículo izquierdo. El grupo de control de la insuficiencia cardiaca crónica mostró niveles de ARNm ANP significativamente aumentados ( $0,963 \pm 0,114$ ) comparados con el grupo normal de control ( $0,607 \pm 0,169$ ). El aumento de los niveles de ARNm ANP disminuyó significativamente en las ratas que recibieron el derivado pirazolopirimidinónico ( $0,739 \pm 0,120$ ) comparado con el grupo de control de la insuficiencia cardiaca. Estos resultados indican que los niveles de ANP elevados debido a los cambios patofisiológicos, disminuyeron a los niveles normales administrando el derivado pirazolopirimidinónico.

15

La Fig. 3 muestra la cantidad depositada del colágeno como un marcador de la fibrosis ventricular. El grupo de control de la insuficiencia cardiaca crónica aumentó el depósito del colágeno significativamente ( $0,928 \pm 0,228$ ) comparado con el grupo de control normal ( $0,384 \pm 0,103$ ). El aumento del depósito de colágeno disminuyó significativamente administrando el derivado pirazolo-pirimidinónico ( $0,604 \pm 0,214$ ). Estos resultados indican que la fibrosis ventricular, que provoca la disfunción sistólica y diastólica ventricular, disminuyó debido al derivado pirazolopirimidinónico, potenciando, por tanto, la función sistólica y diastólica ventricular.

20

25

**TABLA 1**

Mediciones ecocardiográficas en modo M para evaluar la inducción de la enfermedad cardiaca crónica en las ratas SD y los efectos terapéuticos del derivado de la pirazolopirimidinona sobre la enfermedad

30

	Normal	CHF	CHF+cpd.1 (30mg/kg)
IWT(D) (mm)	1,81±0,20	1,56±0,09	1,74±0,13**
LVEDD (mm)	8,69±0,56	9,75±0,85*	8,45±0,62**
PWT(D) (mm)	1,83±0,13	1,64±0,11*	1,78±0,04**
IWT(S) (mm)	2,83±0,17	2,56±0,11*	2,74±0,11**
LVESD (mm)	5,43±0,31	6,20±0,70*	4,68±0,38**
PWT(S) (mm)	2,89±0,15	2,54±0,18*	2,80±0,10**
PWT	0,42±0,05	0,34±0,02*	0,42±0,05**

\*: El grupo CHF muestra una diferencia significativa comparada con el grupo normal ( $p < 0,05$ ).

35 \*\*: El grupo CHF+cpd.1 muestra una diferencia significativa comparado con el grupo CHF ( $p < 0,05$ ).

**EJEMPLOS DE FORMULACIÓN**

Preparación de las formulaciones farmacéuticas para administración oral

40

1. Preparación de polvos
 

El compuesto de fórmula 1	2 g
Lactosa	1 g

45 Los componentes anteriores se mezclaron y situaron en una envoltura estanca para dar lugar a polvos.

2. Preparación de comprimidos
 

El compuesto de fórmula 1	100 mg
Almidón de maíz	100 mg
Lactosa	100 mg
Estearato de magnesio	2 mg

50

Los componentes anteriores se mezclaron, formando comprimidos según un procedimiento habitual de preparación de comprimidos, para producir comprimidos.

55

3. Preparación de cápsulas
 

El compuesto de fórmula 1	100 mg
---------------------------	--------

## ES 2 384 668 T3

Almidón de maíz	100 mg
Lactosa	100 mg
Estearato magnésico	2 mg

5

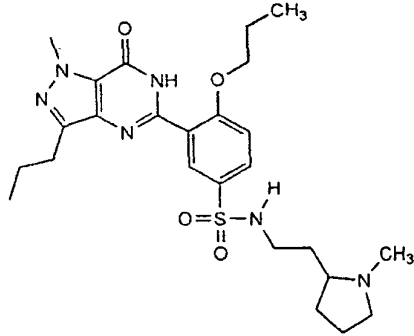
Los componentes anteriores se mezclaron y cargaron en cápsulas de gelatina según un procedimiento habitual de preparación de cápsulas, para producir éstas.



REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica para su utilización en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca crónica, que comprende un derivado de la pirazolopirimidonona representado por la fórmula química 1 siguiente

5



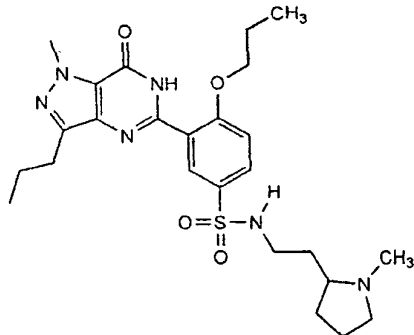
[fórmula química 1]

10 como principio activo.

2. Composición farmacéutica para su utilización según la reivindicación 1, que inhibe los cambios morfológicos cardiacos en la insuficiencia cardiaca crónica.

15 3. Composición farmacéutica para su utilización según la reivindicación 1, que inhibe el agrandamiento de la cavidad ventricular y el cambio del grosor de la pared ventricular en la insuficiencia cardiaca crónica.

4. Utilización de un derivado de la pirazolopirimidinona representado por la fórmula química siguiente



[fórmula química 1]

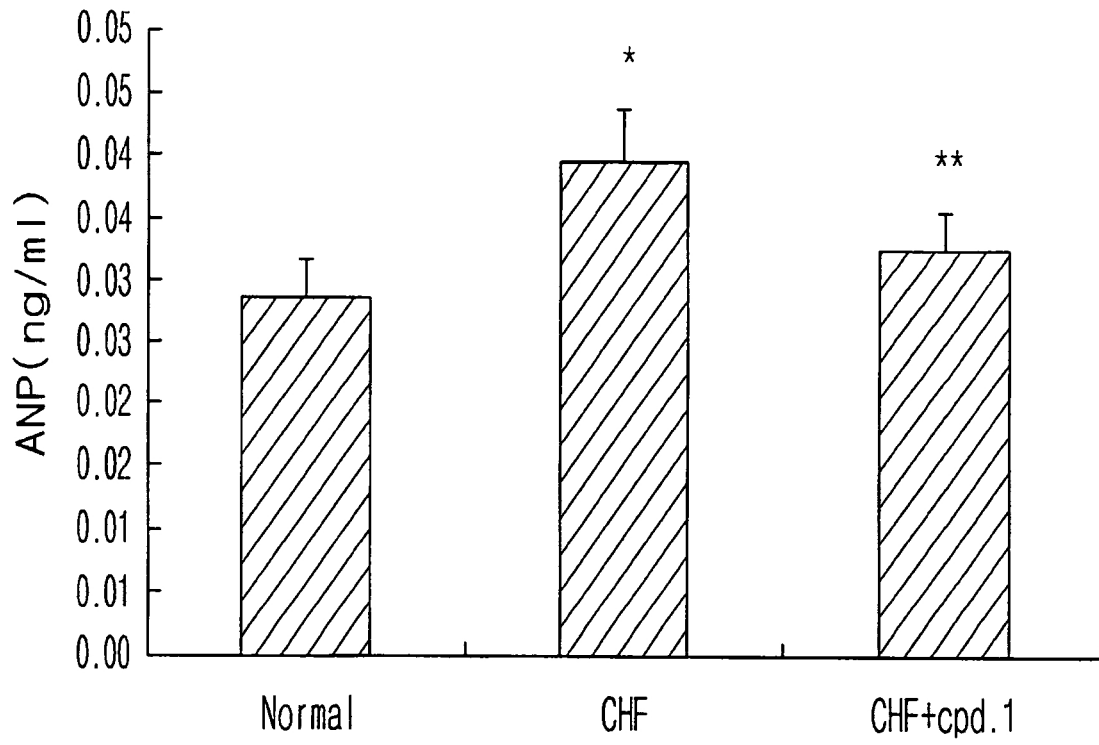
20

en la preparación de una formulación farmacéutica para el tratamiento de la insuficiencia cardiaca crónica.

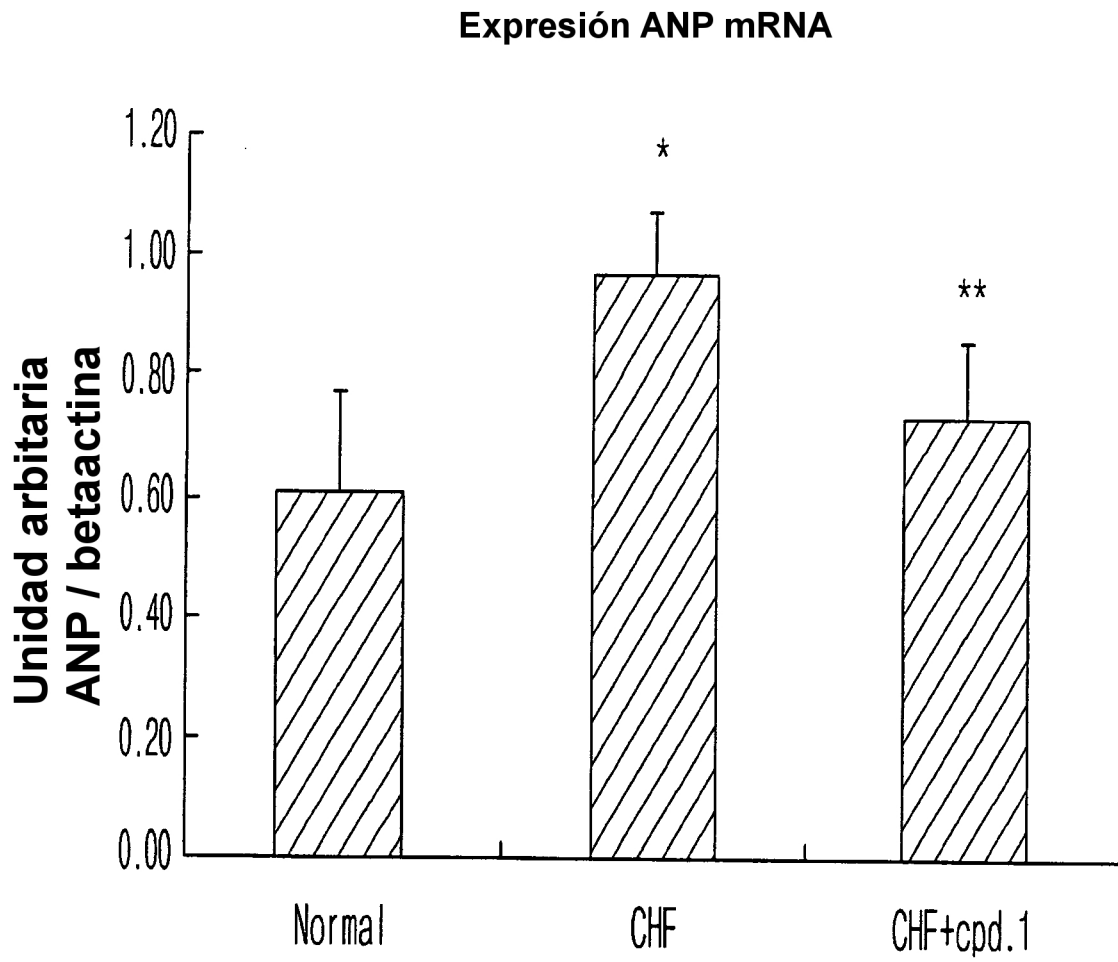
25

# FIGURA 1

Nivel de suero ANP



## FIGURA 2



**FIGURA 3**

