

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 387 682**

51 Int. Cl.:  
**A61K 38/13** (2006.01)  
**A61P 9/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06704161 .6**  
96 Fecha de presentación: **10.01.2006**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1853296**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.11.2007**

54 Título: **Utilización de un undecapéptido cíclico para la preparación de un medicamento administrable durante situaciones isquémicas miocárdicas**

30 Prioridad:  
**10.01.2005 EP 05000357**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**28.09.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**28.09.2012**

73 Titular/es:  
**DEBIOPHARM S.A.  
CH. MESSIDOR 5-7  
1006 LAUSANNE, CH**

72 Inventor/es:  
**SCALFARO, Pietro;  
DUMONT, Jean-Maurice y  
VUAGNIAUX, Grégoire**

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

ES 2 387 682 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 undecapéptido cíclico para la preparación de un medicamento administrable durante situaciones isquémicas miocárdicas.

5 La presente invención se refiere a la utilización de un undecapéptido cíclico para la preparación de un medicamento administrable durante una situación de isquemia miocárdica.

10 Las isquemias miocárdicas se definen como un desequilibrio entre las necesidades y los aportes de oxígeno. Este desequilibrio lleva a un trastorno de la función cardíaca. Las isquemias miocárdicas están, en la gran mayoría de los casos, causadas por una insuficiencia de la circulación sanguínea hacia el tejido muscular cardíaco, privando o disminuyendo drásticamente así las células miocárdicas en el aporte de oxígeno. Estas isquemias pueden estar debidas a la obstrucción de un vaso (trombosis) o a la reducción del diámetro interno de una arteria (estenosis) o a una disminución del flujo sanguíneo coronario (hipoperfusión) tal como en los estados de insuficiencia circulatoria durante una sepsis severa con choque endotoxinémico. En lo referente a la sepsis severa, ésta conlleva también una disfunción hemodinámica con una depresión miocárdica directa.

15 La reperusión se define como el restablecimiento de una circulación sanguínea adecuada dentro de un tejido isquémico que permite alcanzar nuevamente el equilibrio entre necesidades y aportes de oxígeno. La reperusión durante interrupción completa del flujo sanguíneo coronario se efectúa por desobstrucción de la arteria ocluida.

20 Los infartos son provocados por las isquemias. El término infarto define un foco circunscrito de necrosis tisular. Así, el infarto del miocardio conlleva la destrucción de una parte del corazón debido a la muerte de las células del músculo cardíaco.

25 El infarto del miocardio es una enfermedad desafortunadamente muy frecuente. A título de ejemplo, en Francia, aproximadamente 180.000 a 200.000 personas al año padecen esta enfermedad predominante en el hombre. Aparece, con preferencia, en los sujetos que tienen unos factores de riesgos cardiovasculares tales como el consumo de tabaco, la obesidad, una diabetes, la hiperlipidemia o una hipertensión arterial.

30 Durante la sepsis severa, una hipoperfusión miocárdica está acompañada de una depresión miocárdica directa. Hoy en día, no está claro qué mecanismo es el predominante (hipoperfusión o depresión miocárdica por unas citoquinas circulantes) que conduce a una disminución de la función del miocardio. Sin embargo, es bien conocido que el paciente con sepsis severa sufre frecuentemente una insuficiencia cardiovascular con disfunción miocárdica.

35 El infarto agudo del miocardio ("Acute Myocardial Infarction", "AMI") constituye una urgencia cardiológica absoluta que implica una atención por parte de los servicios médicos y hospitalarios especializados con un tratamiento de la fase aguda que tiene como objetivo reperfundir el músculo cardíaco isquémico y prevenir y/o limitar las complicaciones posibles relacionadas con el infarto, que ocasionan frecuentemente el fallecimiento de los pacientes en las primeras horas o los primeros días.

40 La extensión del infarto del miocardio es un elemento determinante para la recuperación funcional contráctil del miocardio y del pronóstico a largo plazo de los pacientes.

45 A pesar de que la perfusión protege indiscutiblemente unas células miocárdicas de la muerte celular causada por la persistencia de la isquemia, ésta se acompaña también de efectos nocivos sobre la función contráctil (sideración miocárdica), el ritmo cardíaco (aparición de arritmias) y la perfusión tisular ("no-reflow"). Unos datos recientes indican incluso que la reperusión puede también paradójicamente matar una parte de las células reperfusionadas (necrosis de reperusión).

50 Durante la reperusión del infarto del miocardio, unos medicamentos que pertenecen a unas clases terapéuticas diferentes tales como, por ejemplo, las de los inhibidores de la agregación plaquetaria, como el ácido acetilsalicílico, la de los beta-bloqueantes, la de los inhibidores de la enzima de conversión (IEC) o la de las estatinas, tienen un aporte beneficioso sobre el pronóstico de los pacientes. Sin embargo, ninguno de estos medicamentos o de otros medicamentos disponibles actualmente administrados durante la reperusión es capaz de limitar el tamaño del infarto del miocardio.

55 Por el contrario, la repetición de episodios de isquemia-reperusión de duración corta (que no provocan por sí mismos ninguna lesión celular irreversible) realizada o bien antes ("pre-acondicionamiento") o bien después ("post-acondicionamiento") del periodo de isquemia responsable del infarto, han mostrado *in vivo* un efecto protector endógeno y una limitación del tamaño del infarto. Sin embargo, las terapias de pre-acondicionamiento no son aplicables en clínica a los pacientes AMI por razones fisiopatológicas y prácticas. En cuanto a los tratamientos de post-acondicionamiento, éstos se aplican sólo a un número limitado de pacientes que presentan un infarto agudo de miocardio, como los que pueden ser tratados por angioplastia coronaria transluminal percutánea.

60 A pesar de que los mecanismos celulares y enzimáticos implicados en las lesiones necróticas del miocardio debidas

a una isquemia-reperfusión no están completamente dilucidadas, Di Lisa *et al.* tienen la opinión, en J. Biol. Chem., 2001, 276(4), 2571-2575, de que la abertura de poros situados en la membrana interna de la mitocondria, denominados poros de transición de permeabilidad mitocondrial ("Mitochondrial Permeability Transition Pore", MPTP) desempeña un papel preponderante en la muerte de las células del miocardio durante una reperfusión después de la isquemia. Así, una acción inhibitoria directa o indirecta de la abertura de estos MPTP por un medicamento tal como la Ciclosporina A conduce a una disminución del efecto nocivo de los fenómenos inducidos por una isquemia-reperfusión sobre la viabilidad del tejido cardíaco.

Sin embargo, dos puntos sugieren que una simple inhibición del MPTP, a pesar de ser necesaria, no es suficiente para obtener un efecto protector del miocardio en las situaciones de isquemia-reperfusión antes mencionadas. Por un lado, existen unos inhibidores de MPTP como el glutatión, que presenta un efecto aditivo con la Ciclosporina A sobre la inhibición del MPTP. Sin embargo, no obstante, no se obtiene una protección de los fenómenos inducidos por la isquemia-reperfusión, o se obtiene únicamente si el tratamiento está asociado a otros factores protectores tal como la recuperación de la función contráctil del miocardio. Por otro lado, la cronología de administración propuesta por diferentes autores en los modelos experimentales es cuestionable para obtener unos efectos beneficiosos inducidos por la inhibición del MPTP. La administración propuesta en muchos modelos experimentales corresponde a una perfusión continua del corazón antes, durante y después del periodo de isquemia, prosiguiéndose durante todo o parte de la fase de reperfusión. Este aspecto de administración no es aplicable tal cual en clínica, y el modo de administración óptimo no se conoce.

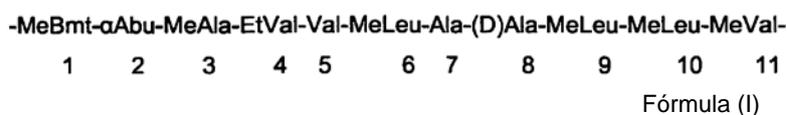
Así, nuevas terapias adyuvantes que deben ser administradas durante la reperfusión, que tienen por efecto cardioprotector limitar el tamaño de la necrosis del miocardio y mejorar su función, son necesarias en el tratamiento de ciertas situaciones de isquemia-reperfusión miocárdicas, en particular durante un infarto agudo del miocardio y/o de una depresión y disfunción del miocardio debidos a una sepsis severa.

Además, el intervalo de tiempo durante el cual el medicamento se administra es importante. La administración del medicamento debe empezar imperativamente antes de la reperfusión, y proseguirse eventualmente durante esta, a fin de obtener el beneficio esperado en término de limitación del tamaño del infarto del miocardio, de la recuperación contráctil muscular y de la supervivencia del paciente.

El objetivo de la presente invención es poner a disposición del terapeuta una medicación que le permita tratar ciertas situaciones de isquemias miocárdicas, en particular durante un infarto agudo y/o tras una sepsis severa, en el tratamiento adyuvante para la reperfusión miocárdica y que tiene por efecto limitar el tamaño del infarto y mejorar su función.

Se ha descubierto, de manera muy sorprendente, que este objetivo se puede alcanzar mediante la utilización de un undecapéptido cíclico particular.

Así, la presente invención tiene por objeto la utilización de un undecapéptido cíclico que tiene la estructura de fórmula (I)



para la preparación de un medicamento administrable durante una situación de isquemia miocárdica y que se debe administrar previamente y/o durante el restablecimiento de dicho flujo sanguíneo.

Teniendo la estructura química del undecapéptido cíclico de fórmula (I) un cierto número de puntos comunes con la de la Ciclosporina A, su fórmula se da utilizando la nomenclatura habitualmente utilizada para caracterizar esta Ciclosporina A. Según esta nomenclatura, MeBmt es la abreviatura del aminoácido N-metil-(4R)-4-but-2E-en-1-il-4-metil-(L)treonina,  $\alpha$ Abu la del ácido L- $\alpha$ -aminobutírico, MeAla la de la N-metil-L-alanina, EtVal la de la N-etil-valina, Val la de la valina, MeLeu la de la N-metil-L-leucina, Ala la de la L-alanina, (D)Ala la de la D-alanina y MeVal la de la N-metil-L-valina. La numeración habitualmente utilizada para caracterizar la posición respectiva de cada uno de estos aminoácidos que constituyen la Ciclosporina A se utiliza también para definir la estructura del undecapéptido cíclico de fórmula (I). Todavía en referencia a la Ciclosporina A, el undecapéptido cíclico de fórmula (I) puede también denominarse [MeAla]<sup>3</sup>-[EtVal]<sup>4</sup>-CsA.

El undecapéptido cíclico tiene la estructura de fórmula (I) y su preparación se ha descrito por J.F. Guichoux en "De nouveaux analogues de Cyclosporin A comme agent anti-HIV-1", tesis de doctorado, Facultad de Ciencias de la Universidad de Lausana, 2002, y por R. Wenger *et al.* en la solicitud de patente internacional WO 00/01715 y el número de registro que se le ha atribuido por Chemical Abstracts Service es CAS RN 254435-95-5.

Este producto, así como algunos de sus análogos estructurales, se presentan en estas publicaciones como teniendo una fuerte actividad para inhibir la acción del virus de inmunodeficiencia humana, agente vírico responsable del

SIDA, mientras que, al mismo tiempo, no tienen las propiedades inmunosupresivas bien conocidas de la Ciclosporina A. Además, se le reconoce también un potencial neuroprotector, en particular la inhibición de MPTP de mitocondrias aisladas del cerebro, por Hansson *et al.* en J. Bioenerg. Biomembr., 2004, 36, 407-413.

5 Las situaciones de isquemias miocárdicas, durante las cuales el undecapéptido cíclico de fórmula (I) puede ser administrado, resultan de la disminución o de la parada de la circulación sanguínea miocárdica, que tiene por consecuencia, entre otras, una reducción o la parada del aporte de oxígeno hacia este órgano que necesita un restablecimiento del flujo sanguíneo o una reperfusión cardiaca. Estas situaciones de isquemia pueden manifestarse por unas disfunciones cardiacas detectables, entre otros, mediante eco- y electrocardiografía. Este fenómeno lleva a  
10 unas lesiones celulares cardiacas detectables, entre otros, mediante mediciones de los marcadores biológicos tales como las enzimas cardiacas, la formación de imágenes médica tal como la ecografía, la escintigrafía nuclear, o la resonancia magnética nuclear.

15 Una isquemia miocárdica aguda, sub-aguda o crónica puede ser provocada por, o estar asociada a, una variedad de factores o enfermedades. Entre estos factores o enfermedades, se pueden citar a título de ejemplo el infarto agudo del miocardio, la angina de pecho, el angor inestable, las enfermedades ateromatosas con tromboembolia, los vasoespasmos, los aneurismas de las pequeñas y medianas arterias y de los grandes vasos, la hipotensión arterial debida a una enfermedad del corazón o sistémica que incluye unas infecciones graves tales como una sepsis severa con o sin choque séptico o unas reacciones alérgicas, una hipotensión debida al efecto de uno o varios  
20 medicamentos, drogas, venenos, productos tóxicos.

Además, se pueden citar asimismo a título de ejemplo las hipoperfusiones secundarias posteriores a una u otra de las enfermedades o situaciones siguientes: diabetes azucarada, hiperlipidemia, tromboangeitis obliterante o enfermedad de Buerger, síndrome de Takayasu, sífilis cardiovascular, trastorno de los tejidos conjuntivos tales como  
25 la enfermedad de Raynaud, flegmasia cerúlea dolens o flebitis azul de Gregoire, traumatismo de los vasos sanguíneos que incluyen los traumatismos iatrogénicos tales como unos actos de cirugía o de trasplantes de órgano, operaciones del corazón y de los grandes vasos con o sin recurrir a técnicas de circulación extracorporeal. Estos actos incluyen también, a título de ejemplo, la inserción quirúrgica de implantes, de dispositivos, de injertos, de prótesis o cualquier otro dispositivo o producto biomédico, en particular cardiológicos. Una lista no limitativa de los  
30 órganos o tejidos en los que pueden presentarse estas situaciones isquémicas comprende el corazón, el cerebro, los riñones, las extremidades, el bazo, el hígado, el estómago y el sistema gastrointestinal que incluye el intestino delgado, el colon y el recto, los pulmones y las vías respiratorias, los ojos, la piel, los músculos, el páncreas, la próstata, la médula ósea, las glándulas endocrinas.

35 La utilización del undecapéptido cíclico de fórmula (I) es el tratamiento de situaciones de isquemia miocárdica, para el tratamiento de una hipoperfusión-reperfusión miocárdica, en particular durante la aparición de un infarto agudo del miocardio y/o de disfunción cardiaca durante sepsis severas.

40 Durante la utilización del undecapéptido cíclico de fórmula (I), el tratamiento de las situaciones relacionadas con las isquemias miocárdicas consiste en administrar al sujeto dicho undecapéptido cíclico previamente y/o durante el restablecimiento del flujo sanguíneo o con una perfusión en adecuación con las necesidades de oxígeno en el corazón o el tejido cardiaco. Así, la circulación sanguínea se restablece mediante una reperfusión obtenida mecánicamente por angioplastia coronaria y/o médicamente tras un tratamiento de fibrinólisis y/o tras medidas de reanimación medicamentosa. El undecapéptido cíclico de fórmula (I) se administra preferentemente previamente a  
45 dicha reperfusión. En este caso, el comienzo de la administración se escalona durante un periodo que va, preferentemente, del minuto treinta antes de la reperfusión, preferentemente durante los 10 minutos antes de esta reperfusión, más preferentemente durante los 5 minutos antes de esta reperfusión, más preferentemente durante el minuto antes de esta reperfusión, hasta el momento de la reapertura de la arteria y/o desde el restablecimiento del  
50 flujo sanguíneo.

La preparación farmacéutica que comprende el derivado se administra por vía intravenosa, intra-arterial, intracoronaria o intramiocárdica, preferentemente en bolus y/o seguido en perfusión continua durante las diez horas siguientes al comienzo de la reperfusión. La administración de la preparación farmacéutica en perfusión continua puede entonces hacerse por vía intravenosa, o por vía intra-arterial.  
55

Cuando el restablecimiento del flujo sanguíneo se inicia por vía medicamentosa, la administración del undecapéptido cíclico de fórmula (I) puede hacerse separadamente y/o previamente o de manera concomitante a esta administración medicamentosa y puede proseguirse en el curso de esta administración medicamentosa y después durante las diez horas siguientes al restablecimiento del flujo sanguíneo. La preparación farmacéutica que  
60 comprende el undecapéptido cíclico de fórmula (I) puede entonces ser administrada en dosis única por vía intravenosa, preferentemente en bolus, y después se puede proseguir en perfusión continua durante las diez horas siguientes al comienzo de la reperfusión.

65 La composición farmacéutica que comprende el undecapéptido cíclico de fórmula (I) como compuesto activo se presenta en forma de disolución, de dispersión, o en forma de formulaciones de depósitos inyectables. Estas formulaciones pueden comprender el compuesto activo en forma de nanocrisales, de micelas, de emulsiones

lipídicas, de microemulsiones o de suspensiones nanoparticulares. Las composiciones farmacéuticas para disoluciones inyectables comprenden dicho undecapéptido en combinación con por lo menos un vehículo farmacéutico aceptable. Antes de la administración, las composiciones concentradas son combinadas con unos diluyentes apropiados, que comprenden por lo menos un excipiente, tal como un agente isotónico, un tampón u otro agente que controla el pH, y un conservante. Estos excipientes pueden ser añadidos para el mantenimiento de la composición, de un intervalo de pH de aproximadamente 5,5 a aproximadamente 8,5 y de osmolaridad de aproximadamente 280 a aproximadamente 400 mosm/l. De manera general, las formulaciones habitualmente utilizadas para la preparación de un medicamento a base de Ciclosporina A son también apropiadas para realizar la presente invención.

La utilización del undecapéptido cíclico de fórmula (I) puede también hacerse como complemento de un tratamiento anti-anginoso estándar (beta-bloqueante, nitroderivado de retardo, antagonista cálcico, antiplaquetario) y/o de un tratamiento del choque séptico. La administración del undecapéptido es entonces o bien concomitante o bien secuencial con por lo menos un segundo compuesto activo en dichos tratamientos.

Preferentemente, durante el tratamiento de una isquemia-reperfusión miocárdica, el undecapéptido cíclico de fórmula (I) se administra en una dosis que va de 0,1 mg/kg a 30 mg/kg, preferentemente de 0,1 mg/kg a 20 mg/kg.

El especialista sabe establecer la modalidad de administración, tanto en lo que se refiere a la cronología, al modo de administración o a la dosis, de manera que una concentración eficaz del undecapéptido cíclico alcance el tejido cardiaco hipoperfusionado a partir de los primeros segundos de la reperfusión.

La invención y todos sus efectos se explicarán en detalle con la ayuda de los dibujos y de los ejemplos.

En estos dibujos:

- la figura 1 representa las curvas de supervivencia de un modelo de isquemia-reperfusión en el ratón y la influencia del undecapéptido cíclico de fórmula (I) sobre el periodo de post-infarto. La curva negra representa el porcentaje de supervivencia a lo largo del tiempo de los ratones tratados con el vehículo farmacéutico solo después de la reperfusión, y la curva clara el de los ratones tratados con el undecapéptido de la invención; y
- la figura 2 representa las curvas de supervivencia de un modelo de choque séptico en el ratón, y la influencia del undecapéptido cíclico de fórmula (I) sobre el periodo post-séptico. La curva con los triángulos representa el porcentaje de supervivencia a lo largo del tiempo de los ratones tratados con un suero fisiológico únicamente, después de la inducción del choque séptico, y la curva con los cuadrados, el de los ratones tratados con el undecapéptido de la invención.

Durante los ejemplos siguientes, se ha utilizado la formulación siguiente:

undecapéptido cíclico de fórmula (I)	35 mg/ml
cremofoer EL	650 mg/ml,
etanol	261 mg/ml

#### **Ejemplo 1: Modelo de isquemia-reperfusión en el conejo - Efecto cardioprotector del undecapéptido cíclico de fórmula (I)**

El objetivo de este estudio es ensayar el efecto cardioprotector del undecapéptido cíclico de fórmula (I), denominado de otra forma [MeAla]<sup>3</sup>-[EtVal]<sup>4</sup>-CsA, en término de reducción del tamaño del infarto del miocardio medido 4 horas después de la aparición del infarto.

Después de la traqueotomía y de la ventilación mediante aire ambiente, se realiza una toracotomía en el cuarto espacio intercostal izquierdo. Una rama marginal de la arteria coronaria circunfleja izquierda se liga con la ayuda de un hilo de seda de sutura 3.0. Durante la intervención, se controlan la temperatura, la frecuencia cardiaca y la presión sanguínea. Después de 30 minutos de oclusión, se quita la ligadura (reperfusión) y los animales son mantenidos durante 4 horas en una atmósfera controlada, antes de la eutanasia.

Un grupo de animales recibe el vehículo farmacéutico de [MeAla]<sup>3</sup>-[EtVal]<sup>4</sup>-CsA, otro grupo se trata mediante [MeAla]<sup>3</sup>-[EtVal]<sup>4</sup>-CsA por vía intravenosa en forma de inyección única respectivamente de 20 mg/kg, un minuto antes de quitar la ligadura. Cuatro horas después de la reperfusión, la arteria coronaria se re-ocluye brevemente y se inyecta un colorante azul por vía intravenosa a fin de determinar la zona de riesgo. Los animales son anestesiados y el corazón extirpado se corta en 5 a 6 finas láminas que se pesan. Se fotografía la superficie basal de estas láminas. La incubación de estas láminas en 2,3,5-trifeniltetrazolio durante 5 minutos a 37°C permite diferenciar las zonas del miocardio vivas (rojo ladrillo) y con necrosis (amarillo palo). Las láminas son fotografiadas. Las áreas de zonas con riesgo y del miocardio con infarto o área con necrosis son determinadas mediante planimetría. El tamaño del infarto y de la zona con riesgo se calcula y se expresa en porcentaje del peso del ventrículo izquierdo.

Tabla 1: Tamaño del infarto del miocardio determinado con respecto a las áreas de necrosis (AN) sobre unas áreas de las zonas con riesgo (AR) en porcentaje. SD representa la desviación estándar.

Compuesto	Número de animales por grupo	Tamaño del infarto (AN/AR $\pm$ SD) [%]
Vehículo farmacéutico	10	49 $\pm$ 9,5
[MeAla] <sup>3</sup> -[EtVal] <sup>4</sup> -CsA	8	29 $\pm$ 6,0

5 Se ha observado que la utilización de [MeAla]<sup>3</sup>-[EtVal]<sup>4</sup>-CsA permite obtener una disminución del tamaño del infarto en la zona con riesgo del orden del 40% con respecto a los animales que han recibido sólo el vehículo farmacéutico.

**Ejemplo 2: modelo de isquemia-reperfusión en el ratón - Influencia de [MeAla]<sup>3</sup>-[EtVal]<sup>4</sup>-CsA sobre el periodo post-infarto (remodelación ventricular y supervivencia)**

10 Después de la anestesia, los ratones son incubados y ventilados mediante un ventilador para roedor. Se controla la temperatura rectal y se mantiene a 38°C-39°C. Después de la esternotomía, la arteria interventricular anterior se liga mediante un hilo de polipropileno 8-0. La isquemia se visualiza mediante la aparición de la elevación del segmento ST sobre EGG (electrocardiograma) y la palidez del miocardio. Después de 25 minutos de oclusión, se quita la ligadura y se controla la reperfusión mediante inspección visual y desaparición de la elevación del segmento ST. La pared torácica se cierra por sutura y los ratones son mantenidos en una atmósfera con temperatura controlada.

15 Un grupo de animales recibe el vehículo de [MeAla]<sup>3</sup>-[EtVal]<sup>4</sup>-CsA; otro grupo es tratado mediante [MeAla]<sup>3</sup>-[EtVal]<sup>4</sup>-CsA por vía intravenosa (inyección única de 10 mg/kg), 3 minutos antes de quitar la ligadura. Se monitorizan los animales durante 30 días y se detalla la mortalidad para cada grupo.

20 Cuatro semanas después de la reperfusión, se estudia la remodelación del ventrículo izquierdo mediante ecocardiografía Doppler, y se mide la fracción de eyección del ventrículo izquierdo.

25 En un grupo de animales que han sufrido 25 minutos de oclusión coronaria seguida de 24 horas de reperfusión, se determinan la zona con riesgo y el tamaño del infarto. Después de una breve re-oclusión del interventricular anterior, se inyecta un colorante azul a través de la vena cava a fin de determinar la zona con riesgo. Los animales son anestesiados y el corazón extirpado. El ventrículo se corta en 5 finas láminas y se fotografía. La incubación de estas láminas en 2,3,5-trifeniltetrazolio durante 15 minutos a 37°C permite diferenciar las zonas del miocardio vivas (rojo ladrillo) y con necrosis (amarillo pálido). Las láminas son fotografiadas. Las áreas de las zonas con riesgos y del miocardio con infarto son determinadas mediante planimetría. El tamaño del infarto y de la zona con riesgo se calculan y expresan en porcentaje del peso del ventrículo izquierdo.

35 Tabla 2: Tamaño del infarto del miocardio determinado con relación a las áreas de necrosis (AN) sobre las áreas de zonas con riesgo (AR) en porcentaje 24 horas después de la reperfusión. SD representa la desviación estándar.

Compuesto	Número de animales por grupo	Tamaño del infarto (AN/AR $\pm$ SD) [%]
Vehículo farmacéutico	10	61,4 $\pm$ 5,8
[MeAla] <sup>3</sup> -[EtVal] <sup>4</sup> -CsA	7	32,1 $\pm$ 7,3

40 Tabla 3: Remodelación del ventrículo izquierdo estudiado mediante ecocardiografía Doppler: fracción de eyección del ventrículo izquierdo 4 semanas después de la reperfusión. SD representa la desviación estándar.

Compuesto	Número de animales por grupo	Fracción de eyección del ventrículo izquierdo $\pm$ SD [%]
Vehículo farmacéutico	10	62 $\pm$ 12
[MeAla] <sup>3</sup> -[EtVal] <sup>4</sup> -CsA	14	77 $\pm$ 6

45 Se ha observado que la utilización de [MeAla]<sup>3</sup>-[EtVal]<sup>4</sup>-CsA permite obtener una disminución del tamaño del infarto en la zona con riesgo del orden del 50% (tabla 2). Además, se ha relevado una disminución del porcentaje de mortalidad en 4 semanas (figura 1) así como una mejor función miocárdica expresada por un aumento de la fracción de eyección (tabla 3).

50 Se encuentra, de manera sorprendente, que estos efectos beneficiosos para una misma dosis de compuesto activo no se obtienen cuando la administración del undecapéptido de la invención se efectúa demasiado prematuramente o demasiado tardíamente con respecto a la reperfusión.

**Ejemplo 3: Modelo de choque séptico en el ratón - Influencia de [MeAla]<sup>3</sup>-[EtVal]<sup>4</sup>-CsA sobre la supervivencia de los ratones septicémicos con una disfunción miocárdica**

55 Después de la anestesia de los ratones, se induce una peritonitis por ligadura y punción ciega como sigue: realización de una laparotomía mediana, exteriorización del ciego y punción única de este por debajo de la válvula ileocecal con una jeringa de calibre 21. El ciego se vuelve a colocar en la cavidad abdominal que se sutura después

en 2 planos. Después de despertar, los ratones reciben mediante inyección parenteral un antálgico nalbufina.

5 Un grupo de animales recibe un suero fisiológico (grupo control); otro grupo está tratado mediante [MeAla]<sup>3</sup>-[EtVal]<sup>4</sup>-CsA a razón de 10 mg/kg por inyección parenteral justo después de la inducción quirúrgica del choque séptico. Los animales son monitorizados durante 4 días y se detalla la mortalidad para cada grupo.

10 La figura 2 representa la mejora de la supervivencia de los ratones septicémicos tratados con [MeAla]<sup>3</sup>-[EtVal]<sup>4</sup>-CsA con respecto a los animales del grupo control. Setenta y dos horas después de la inducción de la sepsis y del comienzo del tratamiento, el porcentaje de supervivencia para los animales tratados es de aproximadamente el 60% con respecto a los animales del grupo control de los cuales el 100% de mortalidad se alcanza en 36 horas. Este efecto se explica esencialmente por el efecto cardioprotector de [MeAla]<sup>3</sup>-[EtVal]<sup>4</sup>-CsA sobre la disfunción miocárdica.

## REIVINDICACIONES

1. Undecapéptido cíclico que tiene la estructura de fórmula (I)

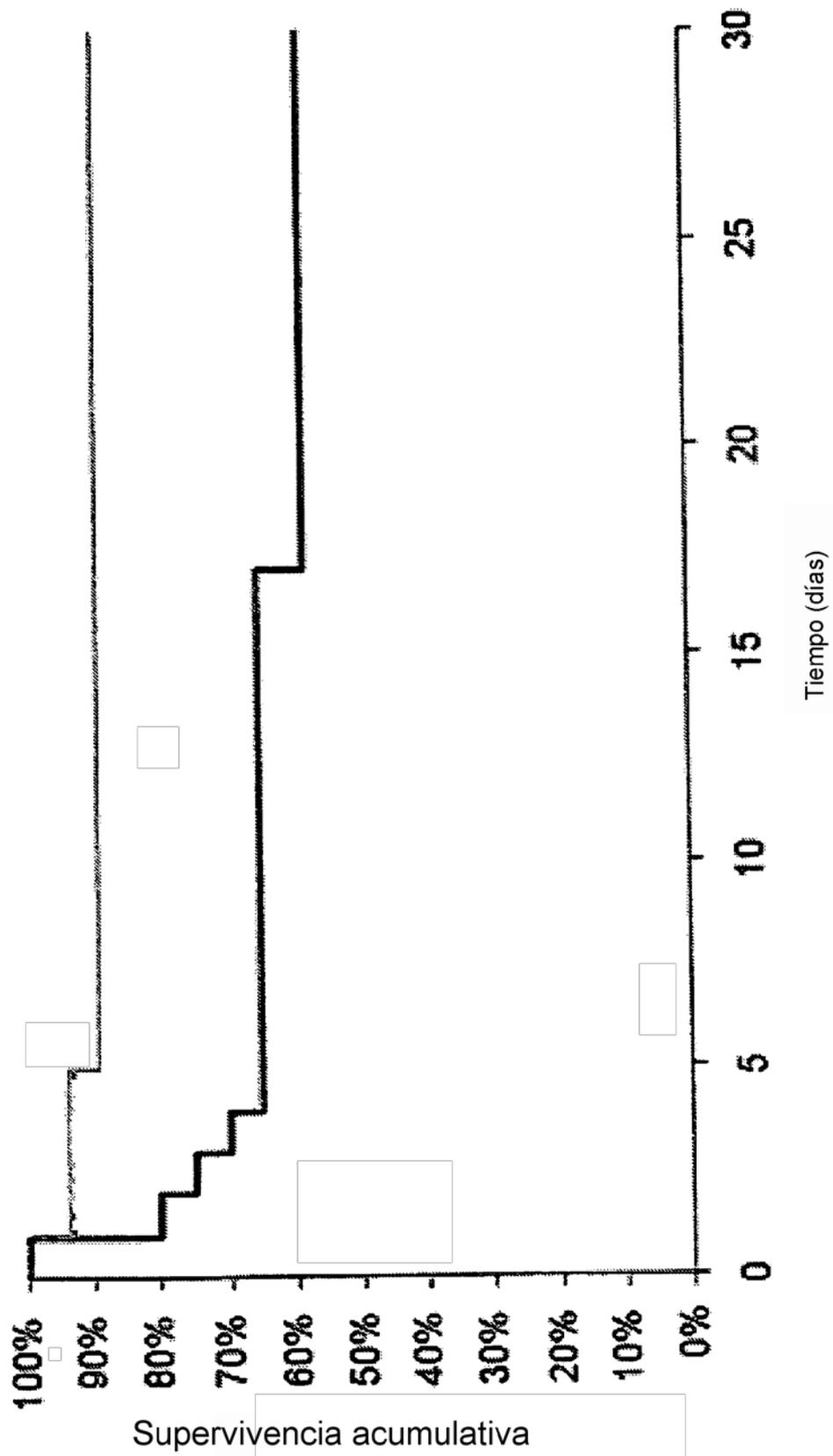


1      2      3      4      5      6      7      8      9      10      11

Fórmula (I)

- 5
- para su utilización como medicamento durante una situación de isquemia miocárdica que necesita el restablecimiento del flujo sanguíneo y que se debe administrar previamente y/o durante el restablecimiento de dicho flujo sanguíneo.
- 10
2. Undecapéptido cíclico para su utilización según la reivindicación 1, cuando dicha situación se manifiesta por una disfunción cardíaca.
- 15
3. Undecapéptido cíclico para su utilización según la reivindicación 2, cuando dicha disfunción cardíaca es la consecuencia de lesiones celulares cardíacas.
- 20
4. Undecapéptido cíclico para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, cuando dicha situación de isquemia miocárdica se encuentra entre el grupo de las enfermedades siguientes: el infarto agudo del miocardio, la angina de pecho, el angor inestable, las enfermedades ateromatosas con tromboembolia, los vasoespasmos, los aneurismas de las pequeñas y medianas arterias y de los grandes vasos, la hipotensión arterial debida a una enfermedad del corazón o sistémica, que incluye unas infecciones graves tales como una sepsis severa con o sin choque séptico o unas reacciones alérgicas, una hipotensión que se debe al efecto de uno o varios medicamentos, drogas, venenos, productos tóxicos.
- 25
5. Undecapéptido cíclico para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, cuando dicho flujo sanguíneo está restablecido por una reperfusión obtenida mecánicamente por angioplastia coronaria y/o médicamente después de un tratamiento de fibrinólisis y/o después de medidas de reanimación medicamentosa.
- 30
6. Undecapéptido cíclico para su utilización según la reivindicación 5, cuando el comienzo de la administración de dicho undecapéptido cíclico de fórmula (I) se escalona durante un periodo que va del minuto treinta antes de la reperfusión hasta el momento de la reapertura de la arteria, y/o desde el restablecimiento del flujo sanguíneo.
- 35
7. Undecapéptido cíclico para su utilización según la reivindicación 6, cuando el comienzo de la administración de dicho undecapéptido cíclico de fórmula (I) se produce en un periodo que va, como muy pronto, desde la declaración de la sepsis y, como muy tarde, 72 horas.
- 40
8. Undecapéptido cíclico para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, cuando dicho undecapéptido cíclico de fórmula (I) se administra a una dosis comprendida entre 0,1 mg/kg y 30 mg/kg.
9. Undecapéptido cíclico según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, cuando dicho undecapéptido cíclico de fórmula (I) se co-administra o se administra separadamente con por lo menos un segundo compuesto activo en el tratamiento anti-anginoso y/o antiséptico.
- 45
10. Undecapéptido cíclico para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, cuando dicho undecapéptido cíclico de fórmula (I) se administra por vía intravenosa o intra-arterial o intracoronaria.

**Fig. 1**



**Fig. 2**

