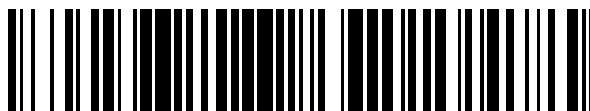


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 391 659**

51 Int. Cl.:

**C07F 9/10** (2006.01)

**A61K 31/661** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07822469 .8**

96 Fecha de presentación: **09.11.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2089401**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **19.08.2009**

54 Título: **Uso de compuestos de glicerol trisustituido para el tratamiento de lesiones por radiación**

30 Prioridad:  
**10.11.2006 US 858170 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**28.11.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**28.11.2012**

73 Titular/es:  
**RADIOPROTECT ALPHAPTOSE  
UG(HAFTUNGSBESCHRÄNKT) & CO. KG  
(100.0%)  
Bast 27a  
23701 Eutin, DE**

72 Inventor/es:  
**RICHTER, WOLFGANG y  
WEBER, LUTZ**

74 Agente/Representante:  
**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

ES 2 391 659 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 compuestos de glicerol trisustituido para el tratamiento de lesiones por radiación.

5 La presente invención se refiere al uso de un compuesto de glicerol trisustituido o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o tratamiento de lesiones por radiación. Además, la invención se refiere a los métodos correspondientes *in vitro* para la prevención o tratamiento de los daños por radiación o lesiones por radiación en una o más células que comprende poner en contacto dichas células con un medicamento como se define en la invención.

10 La exposición a la radiación (como rayos X, rayos gamma y radiación alfa o radiación beta) puede causar daño a las células. Este daño puede originar la muerte celular (por ejemplo, a través de la apoptosis), o puede causar cambios genéticos en la célula, lo que resulta en la proliferación celular incontrolada y como consecuencia el desarrollo y progresión de los tumores.

Mientras que, en general, la exposición a dicha radiación es indeseable, la administración de dosis cuidadosamente supervisadas de radiación es un tratamiento aceptado para ciertos cánceres como la leucemia, cáncer de mama, cáncer de próstata o cáncer de colon. Al centrar la radiación en un tumor, se pueden destruir las células cancerosas.

15 Una complicación frecuente de la radioterapia es la irradiación de los tejidos normales que rodean los tejidos cancerosos. Dichos tejidos normales a menudo son dañados por la radiación, lo que origina una lesión por radiación no deseada a las células y tejidos normales, lo que puede tener consecuencias graves para el paciente afectado.

20 La exposición a la radiación puede ocurrir en varias otras formas, incluida la exposición a niveles de fondo normales de radiación (como los rayos cósmicos o radiación debida a la presencia de isótopos naturales que existen en la tierra) o a elevada radiación ambiental (que incluye la exposición ocupacional de las personas en instalaciones médicas o en las plantas de energía nuclear así como la exposición a rayos X durante el diagnóstico médico). Otra fuente potencial de exposición a ciertos tipos de radiación es la liberación accidental o intencional de materiales radiactivos, por ejemplo, como resultado de un accidente o como consecuencia de actividades terroristas, por ejemplo, como resultado de un arma radiológica como la llamada "bomba sucia" (un dispositivo explosivo destinado a difundir materiales radiactivos para contaminar un área).

25 La forma primaria de protección contra la lesión por radiación es evitar la exposición a la radiación. Pueden utilizarse materiales de protección capaces de impedir la penetración de la radiación en el cuerpo cuando se conoce la fuente de radiación. Por ejemplo, pueden utilizarse delantales de plomo para bloquear los rayos X. Puede utilizarse ropa de protección para evitar la contaminación del cuerpo con materiales radiactivos, y puede utilizarse procedimientos de descontaminación para eliminar materiales radiactivos.

30 El tratamiento con compuestos químicos radioprotectores es un enfoque para la prevención de ciertos tipos de daños por radiación, como daños al ADN causados por los radicales libres (u otras especies reactivas) producidos por la radiación:

35 Un agente radioprotector ampliamente utilizado es la amifostina, un profármaco de tiofosfato orgánico (2-[(3-aminopropil)amino]etanol) dihidrógeno fosfato que es desfosforilado *in vivo* por la fosfatasa alcalina al metabolito de tiol activo (véase, por ejemplo, el documento de patente de los Estados Unidos US 7.073.072 así como los documentos de solicitud de las patentes internacionales WO 02/092103 y WO 02/062350). La protección selectiva de los tejidos no malignos se cree que es debida a una mayor actividad de la fosfatasa alcalina, pH superior y permeabilidad vascular de los tejidos normales. La amifostina es utilizada terapéuticamente entre otras cosas para reducir la incidencia de la fiebre relacionadas con la neutropenia, para reducir la nefrotoxicidad acumulativa asociada con los agentes que contienen platino y para reducir la incidencia de xerostomía en pacientes sometidos a radioterapia de cáncer de cabeza y cuello. Sin embargo, se ha demostrado que la amifostina sólo es eficaz como radioprotector cuando se administra poco antes de una exposición a la radiación. Una administración después de la exposición a la radiación no tiene ningún efecto terapéutico. Además, la administración de amifostina o compuestos de tiol relacionados está asociada con pronunciados efectos adversos tales como citotoxicidad sistémica así como incompatibilidades gastrointestinales tales como náuseas y vómitos. El documento de patente internacional WO 2005/020935 A1 describe métodos y composiciones, en donde la amifostina se administra con la vitamina E, en particular en liposomas para reducir la toxicidad atribuible a la amifostina.

50 Otro compuesto, el 5-androstenodiol, ha sido probado como un protector de radiación en estudios preclínicos en animales. Se informa que este compuesto mejora la supervivencia en ratones expuestos a la radiación, posiblemente por estimular la producción de neutrófilos y otras células del sistema inmunológico y así prevenir la infección, una causa importante de muerte en sujetos lesionados por radiación. Sin embargo, este compuesto es una medida de salvamento y no contrarresta el mecanismo patogénico de la radiación ni protege otros órganos que los del sistema hematopoyético. No ha sido todavía aprobado para uso humano.

Tan prometedores como pueden parecer estos efectos de protección de radiación profiláctica, así son modestos los resultados de los esfuerzos para encontrar una terapia con sustancias químicas administradas después de la irradiación. Hay intentos para tratar los ácidos nucleicos dañados por la irradiación sustituyendo el ADN o ARN. Los primeros resultados de estas investigaciones, sin embargo, no son tan alentadores como para seguir desarrollando el concepto terapéutico. Así, la única opción restante es tratar las consecuencias indirectas de los daños celulares, por ejemplo el impacto sobre la insuficiencia de la médula ósea que rige el resultado clínico después de una irradiación de cuerpo entero de dosis alta. Efectos secundarios de los daños a la médula ósea son infecciones que son causadas por leucopenia y acompañadas por fiebre, agranulocitosis, petequias y profusa hemorragia como consecuencia de la trombocitopenia. Estos síntomas pueden causar la muerte en casos severos. Una terapia de estos efectos secundarios de los daños a la médula ósea incluye el tratamiento con antibióticos, así como una terapia de sustitución con las células de sangre que faltan tales como los granulocitos y trombocitos. La última posibilidad en los casos de carga muy alta de radiación sería el trasplante de médula ósea.

Mientras que el nivel de cuidados intensivos para víctimas letalmente irradiadas podría ser muy alto, dicha terapia estará disponible sólo en algunos hospitales especializados y para un número limitado de pacientes. En caso de una catástrofe nuclear real con probablemente cientos de pacientes altamente irradiados tal tratamiento especializado tan demandante no es factible. Una terapia de cuidados intensivos con trasplante de médula ósea puede rescatar a personas con una irradiación de cuerpo entero de 10 Gy (gris). Sin embargo, en caso de víctimas no tratadas o insuficientemente tratadas la dosis letal se reduce a 3-4 Gy. Así, un adecuado enfoque terapéutico en tal escenario sería una quimioterapia que fuera eficaz a fin de conducir a una prognosis mejorada para esas personas irradiadas a un nivel medio de letalidad.

Los compuestos de glicerol trisustituidos que pertenecen a la clase de alquil-lisofosfolípidos unidos a éter sintéticos podrían ser compuestos candidatos para dicha terapia radioprotectora. En análisis preliminares, ciertos análogos de alquil-lisofosfolípidos han mostrado tener un efecto beneficioso para las células después de una exposición a radiación baja de rayos X en ratones (Berdel, W. et al., (1983) *Radiation Res.* 94, 166-170). Sin embargo, este estudio no menciona nada con respecto a una generalización a otros tipos de radiación, así como sobre las dosis de radiación que pueden ser tratadas. Además, tiene todavía que ser elucidado si son capaces tales análogos de alquil-lisofosfolípidos tanto de prevenir el daño o las lesiones por radiación como de tratarlas.

Se sabe que los alquil-lisofosfolípidos unidos a éter sintéticos tienen una actividad anticarcinogénica (revisada, por ejemplo, por Arthur, G. y Bittman, R. (1998) *Biochim. Biophys. Acta* 1390, 85-102; Jendrossek, V. y Handrick, R. (2003) *Curr Med. Chem. Anti-Canc. Agents* 3, 343-353; Mollinedo, F. et al (2004) *Curr. Med Chem.* 11, 3163-3184). Se considera que la 1-O-octadecil-2-O-metil-glicero-3-fosfocolina (también conocida como Et-18-0CH<sub>3</sub>, AP-121 o edelfosina) es el prototipo de estos lípidos. La 1-O-octadecil-2-O-metil-glicero-3-fosfocolina representa un análogo sintético del factor activador de las plaquetas (PAF; 1-O-alquil-2-acetil-sn-glicero-3-fosfocolina), un activador potente de fosfolípidos y mediador de muchas funciones de los leucocitos, incluyendo la agregación plaquetaria, la inflamación y la anafilaxia. A diferencia de la mayoría de los fármacos quimioterapéuticos convencionales, estos lípidos de éter sintéticos no se dirigen directamente al ADN celular sino que afectan a la composición de lípidos de la membrana plasmática y/o interfieren con diversas rutas de transducción de señal. Por lo tanto, su modo de acción no depende de la presencia de receptores celulares particulares ni es dependiente del ciclo celular.

La quimioterapia para el cáncer generalmente pretende lentificar el crecimiento de, o destruir, las células cancerosas mientras que se evita los daños colaterales a las células y tejidos de los alrededores. En consecuencia, los agentes anticancerígenos más eficaces son aquellos que son capaces de dirigirse selectivamente a las células cancerosas mientras que dejan las células normales relativamente intactas. Los lípidos de éter sintéticos han demostrado ejercer tal efecto (véase, por ejemplo, Magistrelli, A. et al (1995) *Drugs. Metab. Dispos.* 23, 113-118). Han sido propuestos varios mecanismos de acción para la toxicidad de los lípidos de éter hacia las células cancerosas, incluyendo la falta de enzimas de rotura del alquilo de la célula. La incapacidad resultante para hidrolizar los lípidos de éter conduce a su acumulación intracelular y consiguientes daños para la organización de los lípidos de la membrana celular. Otros posibles mecanismos de acción de los lípidos de éter incluyen efectos sobre los niveles de la fosforilación de las proteínas intracelulares y la interrupción del metabolismo de los lípidos celulares. Normalmente, las células normales poseen los medios para evitar o superar los efectos potencialmente tóxicos de los lípidos de éter, mientras que las células cancerosas no.

Hasta ahora, los lípidos de éter sintéticos se han utilizado para el tratamiento de diferentes tipos de tumores tales como tumores cerebrales o carcinomas de mama (véase, por ejemplo, el documento de patente alemana DE 2619686, así como los documentos de solicitud de las patentes internacionales WO 99/59599 y WO 00/01392, respectivamente).

Aunque la actividad antitumoral de estos lípidos de éter sintéticos ha sido comprobada experimentalmente en varios modelos de tumor animales, su uso clínico es a menudo obstaculizado por efectos citotóxicos sistémicos incluyendo hemólisis, particularmente en el tracto gastrointestinal, pero también entre otros en el pulmón, hígado o riñón. En el 10-20% de los pacientes tratados con dichos vehículos basados en agua y/o leche que contiene lípidos de éter se

han observado graves incompatibilidades gastrointestinales correspondientes a los grados de toxicidad de WHO III o IV que están asociadas con náuseas, vómitos, diarrea o estreñimiento (véase, por ejemplo, Drings, P. et al (1992) *Onkologie* **15**, 375-382).

5 Así, hay una necesidad de un medicamento que aparte de ejercer la eficacia farmacéutica deseada, permita una administración fácil y conveniente. En particular, sigue existiendo la necesidad de un medicamento que es al mismo tiempo adecuado para prevenir el daño o lesiones por radiación antes de la exposición a la radiación y para paliar o mejorar los daños o lesiones de la radiación, una vez que se ha producido la exposición a la radiación.

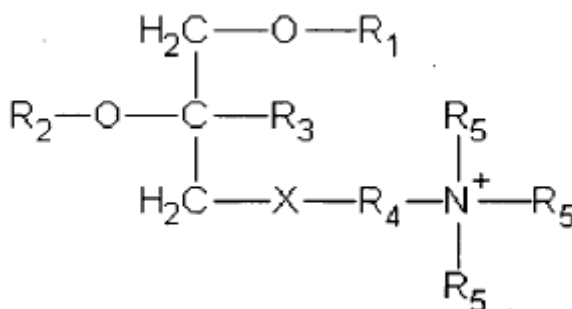
En consecuencia, es un objeto de la invención presente proporcionar un medicamento para la prevención y/o tratamiento del daño o lesión por radiación que tenga tales propiedades.

10 Este objeto se logra mediante el uso de un compuesto de glicerol trisustituido con las características de la reivindicación 1 para la fabricación del medicamento correspondiente. Algunas de las realizaciones preferidas de la invención presente están definidas por el tema de las reivindicaciones dependientes.

15 Sorprendentemente, se ha encontrado que los compuestos de glicerol trisustituidos tal como la 1-O-octadecil-2-O-metil-glicero-3-fosfocolina que son conocidos como agentes anticancerogénicos también están ejerciendo un efecto radioprotector en células y tejidos, lo que permite una eficaz prevención y/o tratamiento del daño o lesiones por radiación en respuesta a diferentes tipos de radiación. El medicamento de la invención proporciona la eficacia deseada, puede ser convenientemente administrado a un paciente y no muestra efectos secundarios adversos.

20 En el contexto de la invención presente cualquier valor numérico indicado está típicamente asociado con un intervalo de precisión que la persona experta en la técnica entenderá que todavía asegura el efecto técnico de la función en cuestión. Como se usa en esta solicitud, la desviación del valor numérico indicado está en el intervalo de  $\pm 10\%$  y preferentemente de  $\pm 5\%$ .

En un primer aspecto, la presente invención se refiere a la utilización de un compuesto de glicerol trisustituido según la fórmula (1)



25 o un enantiómero o diastereoisómero o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o tratamiento de daños o lesiones por radiación, en donde

X se selecciona del grupo que consiste en fosfato y sulfato;

R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>16</sub>-C<sub>20</sub>;

30 R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> y hidroxialquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>;

R<sub>3</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>;

R<sub>4</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> y cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>;

y

R<sub>5</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y metilo.

35 El compuesto de glicerol trisustituido puede presentarse en forma cristalina o amorfa. El término "amorfo", en esta solicitud, se refiere a un sólido en el que no hay orden de largo alcance en las posiciones de los átomos, es decir, es

un material no cristalino. En realizaciones preferidas de la invención, el compuesto de glicerol trisustituido está presente en forma cristalina.

Los términos "alquilo C<sub>n</sub>", "hidroxialquilo C<sub>n</sub>" y "cicloalquilo C<sub>n</sub>", como se usan en esta solicitud, denotan un grupo alquilo, un grupo de hidroxialquilo o un grupo cicloalquilo que tiene n átomos de carbono respectivamente. Por ejemplo, el término "alquilo C<sub>18</sub>" se refiere a un grupo alquilo que tiene 18 átomos de carbono. Los grupos alquilo o hidroxialquilo según la invención puede ser lineales o ramificados.

Los compuestos de glicerol trisustituidos de fórmula (I) tienen uno o más centros asimétricos y por lo tanto pueden existir como enantiómeros o diastereoisómeros. Así, el medicamento tal como se define en la presente invención puede comprender uno o más isómeros individuales separados (tal como la forma L y la forma D) o mezclas de isómeros, mezclas racémicas preferentemente.

En algunas realizaciones de la invención, los compuestos de glicerol trisustituido de la fórmula (I) están presentes en el medicamento como sales farmacéuticamente aceptables. Dichas sales pueden comprender cualquier anión farmacéuticamente aceptable "neutralizando" la carga positiva del nitrógeno (por ejemplo, cloruro, bromuro o yoduro) o cualquier catión farmacéuticamente aceptable "neutralizando" la carga negativa del resto de fosfato o sulfato (por ejemplo, cationes de sodio o de potasio).

En una realización particular preferida de la invención presente, la forma de dosificación sólida farmacéutica comprende un compuesto de glicerol trisustituido según la fórmula (I), donde X es fosfato, R<sub>1</sub> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>17</sub>-CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> es CH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> es H, R<sub>4</sub> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>- y R<sub>5</sub> es CH<sub>3</sub>.

El medicamento según la invención presente puede ser cualquier forma de dosificación farmacéutica que sea terapéuticamente eficaz. Ejemplos de tales formas de dosificación farmacéuticas incluyen, entre otras cosas, comprimidos, píldoras, cápsulas, suspensiones, emulsiones, soluciones de inyección o infusión, tinturas, polvos y similares.

Los medicamentos utilizados en la invención presente comprenden al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. El término "excipiente farmacéuticamente aceptable", como se usa en esta solicitud denota cualquier sustancia utilizada para la preparación de formas de dosificación farmacéutica como materiales de recubrimiento, materiales formadores de película, rellenos, agentes de desintegración, materiales de modificación de la liberación, materiales vehículos, diluyentes, aglutinantes y otros adyuvantes, todos ellos bien conocidos en la técnica (véase las referencias citadas a continuación). Preferentemente, los excipientes utilizados en la invención comprenden al menos un relleno, al menos un aglutinante, al menos un agente de desintegración, al menos un agente de control de la fluidez y al menos un lubricante.

El medicamento puede ser administrado vía cualquier ruta parenteral o no parenteral. Métodos de aplicación parenteral comprenden, por ejemplo, inyección intracutánea, subcutánea, inyección intramuscular o intravenosa y técnicas de infusión. Modos de administración no parenteral incluyen, por ejemplo, la administración oral o tópica. Además, el medicamento puede administrarse de manera local o sistémica.

Preferentemente, el medicamento empleado en la presente invención es una forma de dosificación farmacéutica adecuada para la aplicación oral. Particularmente preferentemente, la forma de dosificación es una forma de dosificación sólida. Ejemplos de tales formas de dosificación incluyen, entre otras, comprimidos, píldoras, cápsulas, granulados, pellets, polvos, formulaciones multiparticuladas (p. ej., perlas, gránulos o cristales) y grageas. Las dosis unitarias de multiparticulados pueden ser incorporadas en una forma de dosificación farmacéutica sólida, por ejemplo, a través de la compresión o conformadas en comprimidos o colocando una cantidad necesaria dentro de una cápsula de gelatina.

Todos estas formas de dosificación sólida de aplicación oral, así como los métodos para su preparación están bien establecidas en la técnica (véase, por ejemplo, Gennaro, A.L. y Gennaro, A.R.(2000) *Remington : The Science and Practice of Pharmacy*, 20 edición, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA; Ritschel, W.A. & Bauer-Brandl, A. (2002) *Die Tablett e: Handbuch der Entwicklung, Herstellung und Qualitätssicherung*. Editio-Cantor Verlag, Aulendorf, Alemania; Crowder, T.M. et al. (2003) *A Guide to Pharmaceutical Particulate Science*. Interpharm/CRC, Boca Raton, Florida; Stricker, H. (2003) *Arzneiformenentwicklung*, Springer Verlag, Berlin, Alemania; Niazi, S.K. (2004) *Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations*, CRC Press, Boca Raton, Florida).

En realizaciones preferidas de la invención, la forma de dosificación sólida farmacéutica se selecciona del grupo que consiste en comprimidos, píldoras, cápsulas y gránulos, con los comprimidos especialmente preferidos.

Preferentemente, la forma de dosificación sólida es una forma de dosificación entérica. Es decir, la forma de dosificación permanece estable en el estómago, es decir, en un ambiente ácido, con valores de pH en el Intervalo de  $\leq 2,5$ . Esto puede lograrse, proporcionando una forma de dosificación sólida que comprende un recubrimiento de

película. Por ejemplo, la forma de dosificación de la invención puede ser en forma de un llamado comprimido recubierto de película.

5 Los métodos para la preparación de formas de dosificación recubiertas de película también están bien establecidos en la técnica (véase, por ejemplo, las referencias citadas anteriormente). Además, el técnico especializado también sabe cómo proporcionar recubrimientos de película con propiedades específicas, tales como revestimientos entéricos, revestimientos de película que se disuelven al contacto con fluidos corporales, recubrimientos de liberación controlada, recubrimientos para enmascaramiento del sabor o recubrimientos de desintegración. En una realización particular preferida, la forma de dosificación sólida de la invención comprende un recubrimiento entérico.

10 Según la invención presente se entiende que el compuesto de glicerol trisustituido está presente en el medicamento en cualquier cantidad que sea eficaz para lograr el deseado efecto farmacológico cuando se administra a un paciente. Las cantidades eficaces generalmente son elegidas según una serie de factores, por ejemplo, la edad, peso y estado general del paciente y la condición médica que está siendo tratada, y determinadas por una variedad de medios, por ejemplo, ensayos de intervalos de dosificación, bien conocidos y fácilmente practicados por personas con conocimiento ordinarios en la técnica dada la información de esta invención.

15 Normalmente, en un medicamento tal como se define en la presente invención la cantidad del compuesto de glicerol trisustituido según la fórmula (I) es de menos de 400 mg, preferiblemente está en el intervalo de 30 a 250 mg y más preferiblemente en el intervalo de 50 a 150 mg. En realizaciones particularmente preferidas de la invención, la cantidad de compuesto de glicerol trisustituido según la fórmula (I) es 75 mg y 100 mg, respectivamente.

20 La dosis diaria de los compuestos de glicerol trisustituido administrado a un paciente es menos de 1200 mg, típicamente menos de 900 mg, preferiblemente en el intervalo de 30 a 600 mg, más preferiblemente en el intervalo de 40 a 400 mg y lo más preferible en el intervalo de 50 a 350 mg. En realizaciones específicas, la dosis diaria es de 75, 100, 150, 200, 225 y 300 mg. Preferiblemente, la dosis diaria del compuesto de glicerol trisustituido es administrada como una dosis única tal como en la forma de uno o hasta cuatro comprimidos o cápsulas. Sin embargo, es también posible administrar el compuesto en dosis múltiples tal como dos o tres dosis individuales administradas durante el día, por ejemplo, en la mañana, al mediodía y por la noche.

25 El medicamento según la invención puede utilizarse para la prevención o tratamiento de lesiones o daños por radiación individualmente o en combinación con al menos un otro medicamento que comprende al menos un ingrediente activo adicional. Es decir, está también dentro del ámbito de la invención presente usar un medicamento que comprende un compuesto de glicerol trisustituido definido en las reivindicaciones junto con al menos un otro medicamento que comprende uno o más ingredientes activos diferentes tales como quimioterapéuticos o anticuerpos monoclonales.

30 El término "daños o lesiones por radiación", como se usa en esta solicitud, se refiere a cualquier efecto negativo o adverso que una exposición a la radiación, independiente de la dosis de radiación aplicada y el tiempo de exposición, respectivamente, pueda ejercer sobre células, tejidos, órganos u organismos originando la proliferación celular incontrolada y/o diferenciación y como una consecuencia al desarrollo y progresión de los tumores. Ejemplos de tales lesiones o daños de radiación incluyen entre otros cambios genéticos en la célula (por ejemplo, mutaciones de ADN y/o ARN, desintegración del ADN o ARN, aberraciones cromosómicas) así como la muerte celular (por ejemplo, la muerte celular programada /apoptosis).

35 En algunas realizaciones de la invención, la lesión o daño de la radiación es causada por radiaciones ionizantes. El término "radiación ionizante" como se usa en esta solicitud, denota radiación de partículas o radiación electromagnética en la cual una partícula/fotón individual lleva suficiente energía para ionizar un átomo o molécula eliminando completamente un electrón de su órbita. Si las partículas individuales no llevan esta cantidad de energía, es esencialmente imposible incluso para una corriente grande de partículas causar la ionización. Estas ionizaciones, si ocurren lo suficientemente, pueden ser muy destructivas para el tejido vivo. Ejemplos de radiación de partículas que son ionizantes pueden ser electrones energéticos, neutrones, iones o fotones atómicos. La radiación electromagnética puede provocar ionización si la energía por fotón, o frecuencia, es lo suficientemente alta, y por lo tanto la longitud de onda es lo suficientemente corta. La cantidad de energía requerida varía entre las moléculas que están siendo ionizadas.

40 Preferiblemente, la radiación ionizante es seleccionada del grupo que consiste en radiación de neutrones, radiación alfa, radiación beta, radiación gamma y rayos X.

45 La radiación de neutrones es llamada a menudo indirectamente radiación ionizante. No ioniza átomos en la misma forma que lo hacen los protones, fotones y electrones porque los neutrones no tienen carga. Sin embargo, las interacciones de los neutrones son ionizantes en gran medida, por ejemplo cuando la absorción de neutrones produce emisiones gamma y la emisión gamma posteriormente quita un electrón de un átomo, o un núcleo retrocediendo de una interacción de neutrón es ionizado y causa más ionización tradicional posterior en otros átomos. Porque los neutrones no están cargados, son más penetrantes que la radiación alfa (núcleos de helio) y

radiación beta (electrones o positrones). En algunos casos son más penetrantes que la radiación gamma (radiación electromagnética), que se ve impedida en materiales de alto número atómico.

Los rayos X son una forma de radiación electromagnética con una longitud de onda en el intervalo de 10 a 0,01 nm, correspondiente a las frecuencias en el intervalo de 30 a 30.000 PHz ( $10^{15}$  Hz). Los rayos X se utilizan principalmente en la radiografía de diagnóstico y la cristalografía. Los rayos X son una forma de radiación ionizante.

En el ámbito de la invención presente, el daño o lesiones por radiación que se van a prevenir y/o tratar pueden ser el resultado de una exposición a radiaciones artificiales o naturales. La exposición a la radiación, en el sentido de la invención, puede ocurrir en varias otras formas, incluida la exposición a niveles de fondo normales de radiación (tales como los rayos cósmicos o la radiación debida a isótopos naturales presentes en la tierra) o a radiación ambiental elevada (incluyendo la exposición ocupacional de las personas en instalaciones médicas o plantas de energía nuclear, así como la exposición a rayos X durante el diagnóstico médico, por ejemplo, la tomografía computarizada). Otra fuente potencial de exposición a ciertos tipos de radiación es la liberación accidental o intencional de materiales radiactivos, por ejemplo, como resultado de un accidente o como consecuencia de actividades terroristas, por ejemplo, como resultado de un arma radiológica tal como las llamadas "bombas sucias" (un explosivo destinado a difundir materiales radiactivos para contaminar un área).

En realizaciones preferidas de la invención, el daño o lesiones por la radiación están asociados con la terapia contra el cáncer, es decir, es el resultado de la radioterapia del cáncer. En una realización especial de la invención, el daño o lesiones por la radiación se asocian con los trasplantes de médula ósea durante el tratamiento del cáncer.

En un segundo aspecto la presente invención se refiere a compuestos de glicerol trisustituidos, como se definen en esta solicitud para la prevención y/o tratamiento del daño o lesiones por la radiación. En realizaciones preferidas, el daño o lesiones por la radiación están asociados con la terapia contra el cáncer o con el trasplante de médula ósea durante el tratamiento del cáncer.

En un tercer aspecto, la presente divulgación se refiere a un método correspondiente para la prevención y/o el tratamiento del daño o lesiones por la radiación, en donde el método comprende administrar un medicamento a un paciente como se define en la invención.

Como se indicó anteriormente, el medicamento según la invención presente puede ser administrado por cualquier vía parenteral o no parenteral. Preferentemente, el medicamento se administra por vía oral. Además, preferentemente, el medicamento puede ser administrado como una dosis única tal como en forma de un comprimido o cápsula al día. Sin embargo, puede ser también posible administrar el medicamento en dosis múltiples tal como dos o tres dosis individuales administradas durante el día. Para la prevención del daño o lesiones por la radiación el medicamento se administra preferentemente antes de la exposición a la radiación. Sin embargo, también es posible administrar el medicamento durante y/o después de la exposición a la radiación.

En un cuarto aspecto, la invención se refiere a métodos *in vitro* para prevenir el daño o lesiones por la radiación y para tratar el daño o lesiones por la radiación en una o más células, respectivamente, cada uno de ellos comprende poner en contacto la una o más células con un medicamento tal como se define en la invención. En el primer método, las células se ponen en contacto con el medicamento antes de la exposición a la radiación.

Preferiblemente, la una o más células son células no cancerosas (es decir, células de control no tumorogénicas) tales como las células de la médula ósea.

La invención se describe adicionalmente con las siguientes figuras y ejemplos, que se usan únicamente con el propósito de ilustrar realizaciones específicas de esta invención, y no deben interpretarse como que limiten el alcance de la invención de ninguna manera.

Los materiales utilizados en las pruebas siguientes son o comercialmente disponibles o fácilmente preparados de materiales disponibles comercialmente por aquellos especializados en la técnica.

#### Figuras

La figura 1 ilustra el efecto radioprotector de ET-18-OCH<sub>3</sub> en la tasa de supervivencia de ratones. Se administró una sola dosis de 50 mg/kg peso corporal de ET-18-OCH<sub>3</sub> a cada uno de 40 ratones (control 20 ratones, ratones de prueba 20). 24 horas más tarde, los 20 ratones de prueba fueron expuestos a dosis de radiación gamma de 7,9 Gy (gris) y 8,7 Gy, respectivamente. Las tasas de supervivencia fueron monitorizadas durante 30 días.

La figura 2 muestra el efecto radioprotector de ET-18-OCH<sub>3</sub> (referido como "ALP") en el número de linfocitos de los ratones. Los ratones fueron tratados con una sola dosis de 70 mg/kg de ET-18-OCH<sub>3</sub> (administrada por vía subcutánea) 24 horas antes de la exposición a la radiación de neutrones (2,0 Gy de dosis de radiación). El número de linfocitos por  $\mu$ l de sangre de ratones no tratados (irradiados) y de ratones tratados (de la prueba) se determinó en los días 1, 3 y 10 después de la irradiación.

La figura 3 muestra el efecto radioprotector de ET-18-OCH<sub>3</sub> (referido como "ALP") en el número de granulocitos de los ratones. El experimento fue realizado de manera análoga a como se describe en la figura 2.

**Ejemplos**

La eficacia de 1-O-octadecil-2-O-metil-glicero-3-fosfocolina (a continuación referida como "ET-18-OCH3") como un radioprotector en el tratamiento de una lesión por radiación aguda causada por dosis de radiación (medio) letales fue analizada determinando su influencia en la tasa de supervivencia de los ratones y en el síndrome hematológico de la lesión por radiación en respuesta a diferentes tipos de radiación.

**Ejemplo1: Eficacia de ET-18-OCH3 en respuesta a los rayos X**

Se administró una sola dosis de 25 mg/kg de ET-18-OCH3 de una vez por vía intravenosa a 25 ratones 12 horas después de la exposición a una dosis de rayos x de 650 cGy (centigris). Sólo uno de los 25 ratones tratados murió, en comparación con 6 de los 25 ratones del grupo de control.

Después de una administración intravenosa de 25 mg/kg de ET-18-OCH3 6 y 12 horas después de la irradiación de rayos X, respectivamente, se obtuvieron los siguientes resultados (tabla 1). La distribución de chi-cuadrado es dada para todos los valores positivos. Se usó la prueba de chi-cuadrado para comparar los resultados de los animales tratados frente a los de control.

Tabla 1: Tasas de supervivencia de ratones irradiados con rayos X tras la administración de 2 x 25 mg/kg de ET-18-OCH3 6 y 12 horas después de la irradiación, respectivamente.

Dosis de rayos X (cGy)	Muerte/supervivencia de los controles	Muerte/supervivencia de los tratados	Chi <sup>2</sup>	p
650	4/26	2/28	0,74	0,402
700	19/11	3/25	17,03	< 0,001
750	27/3	14/16	13,02	< 0,001
800	30/0	22/8	9,23	0,002

Se aumentó la dosis LD<sub>50/30</sub> de rayos X de 688,1±38,6 a 749±37,1 cGy para los animales tratados *versus* los animales de control no tratados. La letalidad mediada por los rayos X se retrasó en los ratones tratados, en comparación con los ratones de control.

Después de una administración oral de 25 mg/kg de ET-18-OCH3 6 horas y 24 horas después de la exposición a una dosis de rayos X de 700 cGy de irradiación, respectivamente, 2 de los 25 animales tratados murieron, comparado con 7 de los 25 animales de control.

**Ejemplo 2: Eficacia de ET-18-OCH3 en respuesta a la radiación de neutrones**

Se irradiaron los ratones utilizando un generador de van de Graaf con neutrones de 3-8 MeV. Las dosis de radiación utilizadas en los análisis siguientes fueron 400, 410 y 420 cGy para cada tercera parte de los ratones tratados y los ratones de control, respectivamente. Una sola dosis de 50 mg/kg de ET-18-OCH3 fue administrada a la mitad de los ratones por inyección subcutánea. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2: Tasas de supervivencia de ratones tras la exposición a radiación de neutrones de 400-420 cGy y administración subcutánea de 50 mg/kg de ET-18-OCH3 en diferentes tiempos. Se utilizó la prueba chi-cuadrado para comparar los animales tratados frente a los animales de control.

Número	Tratamiento	Supervivencia/ Muerte	Comp.	Chi <sup>2</sup>	p
1	-	8 (38%) / 13 (62%)			
2	ET-18-OCH3 6 horas	12 (52%) / 11 (48%)	1 vs. 2	0,88	0,382
3	-	8 (36%) / 14 (64%)			
4	ET 18-OCH3 2 horas	13 (54%) / 11 (46%)	3 vs. 4	1,46	0,226
5		6 (29%) / 15 (71%)			
6	ET 18-OCH3 30 minutos	18 (75%) / 6 (25%)	5 vs. 6	9,79	0,002



5 A partir de estos resultados, se puede concluir que un tratamiento con una dosis única de ET-18-OCH3 debe llevarse a cabo en el punto de tiempo más temprano posible después de la irradiación con neutrones. Como los experimentos de terapia se llevaron a cabo con un rango de dosis de irradiación, en el que predomina el síndrome hematológico de la lesión por radiación, la evaluación del efecto terapéutico del medicamento en el sistema de formación de la sangre (hematopoyético) es importante. En la tabla 3 se hace patente que ET-18-OCH3 aumenta significativamente la concentración de leucocitos y granulocitos en la sangre periférica durante el período de tiempo en que los ratones irradiados murieron (días 10 - 15 después de la irradiación).

10 Tabla 3: Cambio en el número de células de la sangre periférica de ratones 7 y 14 días después de la exposición a una radiación de neutrones de 300 cGy y administración subcutánea de 50 mg/kg de ET-18-OCH3 2 horas y 30 minutos después de la irradiación, respectivamente. Se da la distancia media/intercuartil para diversos tipos de células/ $\mu$ l; para los trombocitos, los valores se dan en 1000 células/ $\mu$ l. El test de Wilcoxon-Mann-Whitney fue utilizado para la comparación de los controles frente a los animales tratados (valores de p).

Tipo de célula	Tiempo (días)	ET-18-OCH3 2 horas	Control 2 horas	p	ET-18-OCH3 30 minutos	Control 30 minutos	p
Leucocitos	7	675/413	550/200	0,07	975/450	750/450	0,38
	14	9975/5863	4400/9200	0,013	8675/11827	3350/1900	0,029
Linfocitos	7	446/132	399/9200	>0,4	684/255	641/264	>0,4
	14	5101/3765	2801/3266	0,013	7439/6942	1915/1257	0,017
Granulocitos	7	240/304	125/132	0,034	209/202	112/264	0,1
	14	4189/2282	1542/3300	0,007	3063/3121	854/1089	0,011
Trombocitos	7	900/315	934/273	>0,4	698/427	660/50	>0,4
	14	987/464	979/290	>0,4	533/263	580/320	>0,4
Hematocrito	7	42,5/9,0	43,0/5,0	>0,4	40,0/5,5	37,0/8,8	>0,4
	14	37,0/8,5	31,0/4,0	0,008	32,5/5,0	28,0/14,0	0,128

**Ejemplo 3: Eficacia de ET-18-OCH3 antes de aplicar la radiación gamma**

15 El efecto de un tratamiento profiláctico con ET-18-OCH3 en la tasa de supervivencia de ratones irradiados con radiación gamma se resume en la tabla 4.

20 Tabla 4: Tasa de supervivencia de los ratones después de irradiación con radiación gamma y administración de una dosis única de ET-18-OCH3 a diferentes tiempos antes de la exposición a la radiación o después de la radiación (a.r.), respectivamente. Se utilizó la prueba de chi-cuadrado para comparar los animales tratados frente a los animales de control.

Dosis (cGy)	Tratamiento ET 18-OCH3	Supervivencia	Muerte	Chi <sup>2</sup>	p
750	-	11 (55%)	9 (45%)		
750	30 mg/kg; a.r.	17 (94%)	1 (6%)	7,60	0,006
775	-	0	20 (100%)		
775	40 mg/kg; a.r.	8 (40%)	12 (60%)	10,00	0,002
800	-	0	35 (100%)		
800	40 mg/kg; a.r.	25 (71%)	10 (29%)	3889	<0,001
775	50 mg/kg; 2 h	15 (75%)	5 (25%)		
800	50 mg/kg; 2 h	17 (85%)	3 (15%)		
750	-	10 (50%)	10 (50%)		
750	50 mg/kg; 1 d	20 (100%)	0	13,33	<0,001
775	50 mg/kg; 1 d	18 (90%)	2 (10%)		
790	-	2 (10%)	18 (90%)		
790	50 mg/kg; 1 d	18 (90%)	2 (10%)	25,60	<0,001
830	-	1 (5%)	19 (95%)		
830	50 mg/kg; 1 d	17 (85%)	3 (15%)	25,85	<0,001
870	-	0	20 (100%)		
870	50 mg/kg; 1 d	13 (65%)	7 (35%)	19,26	<0,001

Por lo tanto, el tratamiento de los ratones con ET-18-OCH3 produjo un efecto radioprotector significativo que fue similar cuando ET-18-OCH3 fue administrado o 24 horas o poco antes de la irradiación. Esto es en contraste con el efecto de radioprotectores convencionales que es sólo aparente, cuando el radioprotector se administra poco antes de la administración. Cuando se administra ET-18-OCH3 un día antes de la irradiación, la dosis LD<sub>50/30</sub> de radiación gamma aumentó de 7,47 Gy (controles no tratados irradiados) a 8,98 Gy (ratones irradiados tratados) (según lo determinado por un análisis probit). El efecto de ET-18-OCH3 en la tasa de supervivencia de los ratones en las dos dosis diferentes de radiación se representa en la Figura 1.

**Ejemplo 4: Eficacia de ET-18-OCH3 antes de aplicar la radiación de neutrones**

El efecto de ET-18-OCH3 antes de aplicar diferentes dosis de radiación de neutrones en las tasas de supervivencia de los ratones se resume en la tabla 5.

Tabla 5: Efecto de ET-18-OCH3 administrado por vía subcutánea 1 día antes de la irradiación de neutrones. Se utilizó la prueba de chi-cuadrado para comparar los animales tratados frente a los animales de control.

Dosis (cGy)	Tratamiento	Supervivencia	Muerte	Chi <sup>2</sup>	p
425	-	0	15 (100%)		
425	50 mg/kg	4 (27%)	11 (73%)	4,61	0,032
450	-	8 (28%)	21 (72%)		
450	50 mg/kg	22 (73%)	8 (26%)	12,35	<0,001
475	-	0	20 (100%)		
475	50 mg/kg	6 (24%)	19 (76%)	5,54	0,019
425	-	0	15 (100%)		
425	70 mg/kg	5 (33%)	10 (67%)	6,00	0,014
450	-	1 (7%)	14 (93%)		
450	70 mg/kg	3 (20%)	12 (80%)	1,15	0,283

**Ejemplo 5: Efecto de ET-18-OCH3 en el conteo de glóbulos blancos (hemograma)**

Después de la administración de 50 mg/kg y 70 mg/kg de ET-18-OCH3, respectivamente, y exposición a radiación de neutrones, la reducción del número de leucocitos (tanto de linfocitos como de granulocitos) aumentó ligeramente, en comparación con los controles no tratados (no fue estadísticamente significativo; 5 experimentos, n = 90).

Sin embargo, comenzando en el día 3 después de la irradiación, el tratamiento con ET-18-OCH3 produjo un aumento en el número de leucocitos (tanto linfocitos como granulocitos), que se convirtió en significativo en el día 7 (4 experimentos; n = 30, p < 0,003). No se observó ninguna diferencia estadísticamente significativa entre la administración de 50 mg/kg y 70 mg/kg de ET-18-OCH3. El efecto radioprotector de ET-18-OCH3 en el número de linfocitos y granulocitos en ratones se muestra en la figura 2 y figura 3, respectivamente.

A pesar de un aumento significativo causado por la administración de ET-18-OCH3, a dosis de irradiación medio letales el número de linfocitos se mantiene en un nivel bajo, lo que es un promedio aproximadamente de una décima parte del valor normal, mientras que el número de leucocitos de los animales tratados muestra una variación mucho mayor que la de los controles. Así, en los días 7 a 10 después de la irradiación los animales tratados pueden clasificarse en dos grupos, en uno de los cuales el número de leucocitos casi no ha variado, en comparación con el grupo de control. Estos ratones normalmente mueren del día 10 a 14 después de la irradiación. Las porciones respectivas de fracciones de leucocitos fueron inconsistentes, sin embargo, en general tanto los números de leucocitos como de granulocitos aumentaron significativamente.

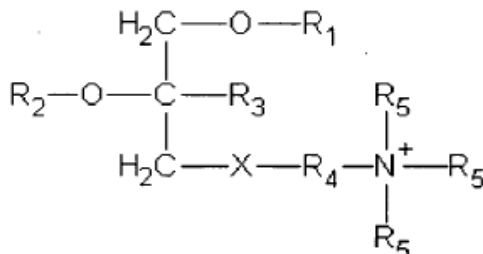
La invención presente descrita ilustrativamente adecuadamente en esta solicitud puede ser adecuadamente practicada en ausencia de cualquier elemento o elementos, limitación o limitaciones, no específicamente divulgados en esta solicitud. Así, por ejemplo, los términos "que comprende", "que incluye", "que contiene", etc. deberán leerse expansivamente y sin limitación. Además, los términos y expresiones empleados en esta solicitud se han utilizado como términos de descripción y no de limitación, y no hay ninguna intención en el uso de dichos términos y expresiones de excluir cualquier equivalente de los aspectos que se muestran y describen o porciones de los mismos, pero se reconoce que diversas modificaciones son posibles en el ámbito de la invención reivindicada. Por lo tanto, se debe entender que aunque la invención presente ha sido divulgada específicamente con realizaciones

preferidas y características opcionales, modificaciones y variaciones de las invenciones contenidas en esta solicitud y divulgadas en ella pueden ser intentadas por los entendidos en la materia, y que dichas modificaciones y variaciones se consideran estar dentro del alcance de esta invención.

- 5 Otras realizaciones están dentro de las siguientes reivindicaciones. Además, donde se describen características o aspectos de la invención en términos de grupos de Markush, aquellos especializados en la técnica reconocerán que la invención también por lo tanto está descrita en términos de cualquier miembro individual o subgrupo de miembros del grupo Markush.

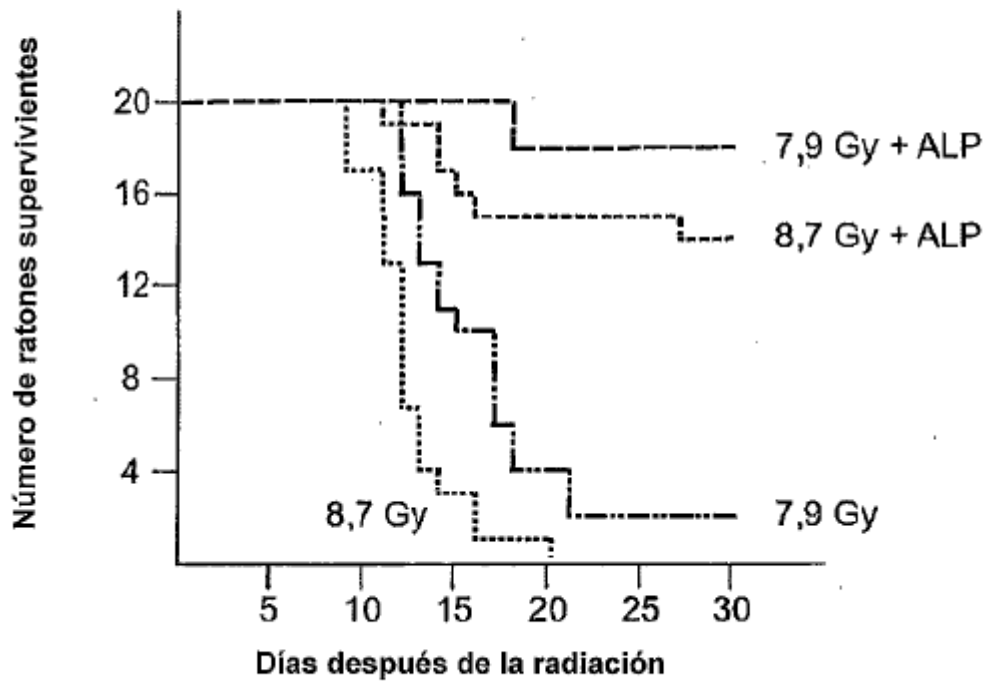
## REIVINDICACIONES

1. El uso de un compuesto de glicerol trisustituido según la fórmula (1)

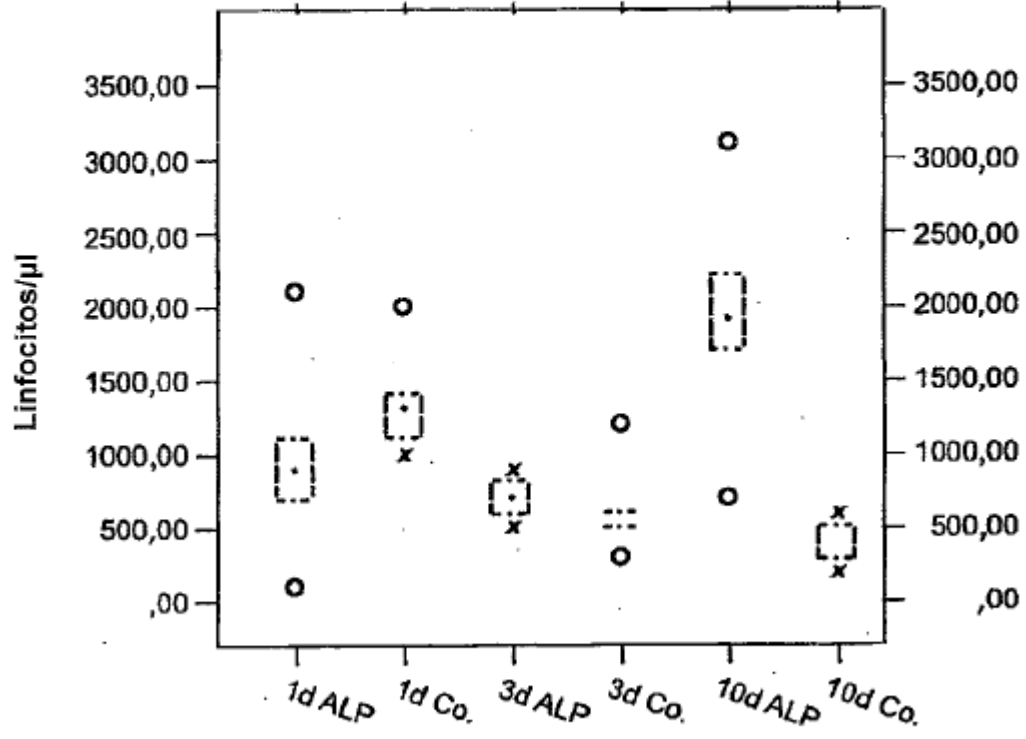


- 5 o un enantiómero o diastereoisómero o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y por lo menos un excipiente farmacéuticamente aceptable para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o tratamiento del daño o lesiones por radiación, en donde
- X se selecciona del grupo que consiste en fosfato y sulfato;
- R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>16</sub>-C<sub>20</sub>;
- R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> y hidroxialquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>;
- 10 R<sub>3</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>;
- R<sub>4</sub> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> y cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>; y
- R<sub>5</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y metilo.
2. El uso según la reivindicación 1, en donde X es fosfato, R<sub>1</sub> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>17</sub>-CH<sub>3</sub>, R<sub>2</sub> es CH<sub>3</sub>, R<sub>3</sub> es H, R<sub>4</sub> es -(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-, y R<sub>5</sub> es CH<sub>3</sub>.
- 15 3. El uso según la reivindicación 1 o 2, en donde el medicamento es una forma de dosificación para la administración oral.
4. El uso según la reivindicación 3, en donde la forma de dosificación es una forma de dosificación sólida.
5. El uso según la reivindicación 4, en donde la forma de dosificación se selecciona del grupo que consiste en comprimidos, píldoras, cápsulas y gránulos.
- 20 6. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde la cantidad de compuesto de glicerol trisustituido en el medicamento está en el intervalo de 30 a 250 mg, preferentemente en el intervalo de 50 a 150 mg.
7. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la dosis diaria del compuesto de glicerol trisustituido está en el intervalo de 50 a 350 mg.
8. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde el daño o lesión por la radiación es causado por radiación ionizante, la radiación ionizante preferiblemente se selecciona del grupo que consiste en radiación de neutrones, radiación alfa, radiación beta, rayos gamma y rayos X.
- 25 9. El uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el daño o lesiones por radiación está asociado con la terapia del cáncer, preferiblemente con el trasplante de médula ósea durante la terapia del cáncer.
10. Un compuesto de glicerol trisustituido tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para uso en la prevención y/o tratamiento del daño o lesiones por radiación.
- 30 11. El compuesto de glicerol trisustituido según la reivindicación 10, en donde el daño o lesiones por radiación está asociado con la terapia del cáncer, o con el trasplante de médula ósea durante la terapia del cáncer.
12. Un método *in vitro* para prevenir el daño o lesiones por radiación en una o más células, que comprende: poner en contacto la una o más células antes de la exposición a la radiación con un medicamento tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.
- 35 13. Un método *in vitro* para tratar el daño o lesiones por radiación en una o más células, que comprende: poner en contacto la una o más células con un medicamento tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.
14. El método *in vitro* según la reivindicación 12 o 13, en donde la una o más células son células no cancerosas, preferiblemente células de la médula ósea.

**FIG. 1**



**FIG. 2**



**FIG. 3**

