

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 433 663**

51 Int. Cl.:

C07C 233/05	(2006.01)	A61P 17/06	(2006.01)
C07C 275/00	(2006.01)	A61P 9/00	(2006.01)
A61K 31/17	(2006.01)	A61P 17/02	(2006.01)
A61K 31/165	(2006.01)	A61P 15/08	(2006.01)
A61K 31/166	(2006.01)	C07C 235/20	(2006.01)
A61K 31/167	(2006.01)	C07C 235/56	(2006.01)
A61P 35/00	(2006.01)	C07C 235/60	(2006.01)
A61P 27/00	(2006.01)	C07C 237/42	(2006.01)
A61P 31/18	(2006.01)	C07C 243/38	(2006.01)
A61P 19/02	(2006.01)	C07C 279/12	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.06.2005 E 05760811 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2013 EP 1756041**

54 Título: **Compuestos policatiónicos y usos de los mismos**

30 Prioridad:

15.06.2004 US 579282 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

12.12.2013

73 Titular/es:

**POLYMEDIX, INC. (100.0%)
PO BOX 130
BRYN MAWR PA 91010, US**

72 Inventor/es:

SHAKER, MOUSA

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 433 663 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

Compuestos policatiónicos y usos de los mismos

Referencia a solicitudes relacionadas

5 Esta solicitud reivindica prioridad de la Solicitud Provisional de EE.UU. de N° de serie 60/579.282 presentada el 15 de junio de 2004 titulada "Modulación de la Angiogénesis Mediante Compuestos Policatiónicos".

Antecedentes de la invención

10 La angiogénesis es el desarrollo de vasos sanguíneos nuevos a partir de vasos sanguíneos preexistentes. Fisiológicamente, la angiogénesis asegura el desarrollo adecuado de los organismos adultos, prepara el útero para la implantación del óvulo fecundado, y desempeña un papel clave en la cicatrización de heridas, la reparación de fracturas, y el establecimiento y mantenimiento del embarazo. La angiogénesis también está asociada a afecciones patológicas asociadas a varios estados patológicos tales como cáncer, inflamación, y enfermedades oculares.

15 La angiogénesis o "neovascularización" es un proceso de múltiples etapas controlado por el equilibrio de factores pro- y anti-angiogénicos. Las últimas etapas de este proceso implican la proliferación y organización de las células endoteliales (CE) en estructuras tubulares. Se cree que los factores de crecimiento tales como el factor de crecimiento de fibroblastos 2 (FGF2) y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) son elementos claves en la estimulación del crecimiento y la diferenciación de las células endoteliales. La célula endotelial es el componente fundamental del proceso angiogénico, y responde a muchas citocinas por medio de sus receptores de la superficie celular y mecanismos de señalización intracelular.

20 El control de la angiogénesis es un proceso complejo que implica la liberación local de factores de crecimiento vascular, moléculas de adhesión de la matriz extracelular, y factores metabólicos. Las fuerzas mecánicas dentro de los vasos sanguíneos también pueden desempeñar un papel. Las clases principales de factores de crecimiento endógenos implicados en el crecimiento de vasos sanguíneos nuevos son la familia de factores de crecimiento de fibroblastos (FGF) y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). La cascada de transducción de señales de la proteína quinasas activadas por mitógenos (MAPK; ERK1/2) esta implicada tanto en la expresión génica de VEGF como en el control de la proliferación de las células endoteliales vasculares.

25 El documento WO 98/03573 describe que los polímeros lineales catiónicos o aniónicos son inhibidores de la angiogénesis.

30 El documento WO 02/060488 describe compuestos de fórmula A-B, que cerca de las células tumorales da como resultado un resto B cargado positivamente y un resto A sin carga o cargado negativamente, en el que el resto B es capaz de interactuar con sustancias similares a heparina cargadas negativamente e inducir la coagulación de la sangre.

El documento US 2004/097401 enseña el uso de compuestos que estimulan la angiogénesis para el tratamiento de enfermedades que implican la angiogénesis.

35 Dings Ruud P.M. et al (Angiogenesis vol. 6, nº. 2, 1 de enero de 2003, págs. 83-91) enseña que los péptidos anti-angiogénesis son de naturaleza principalmente catiónica.

El documento WO 2004/082634 enseña métodos de uso de polímeros y oligómeros anfífilos faciales que incluyen los usos, tales como para agentes antimicrobianos y como antídotos para las complicaciones hemorrágicas asociadas a la terapia con heparina.

40 Muchas enfermedades y afecciones indeseables se podrían prevenir o aliviar si fuera posible detener el crecimiento y la prolongación de los vasos sanguíneos capilares en ciertas condiciones, en ciertos momentos, o en tejidos particulares. Las enfermedades dependientes de la angiogénesis que se pueden tratar mediante los compuestos descritos en la presente memoria son las afecciones/enfermedades que requieren o inducen el crecimiento vascular. Por otra parte, la promoción de la angiogénesis es deseable en situaciones en las que se debe establecer o prolongar la vascularización, tales como ictus, cardiopatía, úlceras, esclerodermia e infertilidad.

45 Se ha propuesto que la inhibición de la angiogénesis sería una terapia útil para limitar el crecimiento desregulado de vasos sanguíneos, por ejemplo, en el crecimiento tumoral. La inhibición de la angiogénesis se puede conseguir inhibiendo la respuesta de las células endoteliales a los estímulos angiogénicos tal como sugirió Folkman et al., *Cancer Biology* 3:89-96 (1992), en el que se describen ejemplos de inhibidores de la respuesta de las células endoteliales, tales como esteroides angiostáticos, productos derivados de hongos tales como fumagilina, factor plaquetario 4, trombospondina, interferón alfa, análogos de vitamina D, y D-penicilamina. Para inhibidores propuestos adicionales de la angiogénesis, véase Blood et al., *Bioch. Biophys. Acta* 1032:89-118 (1990), Moses et al., *Science* 248:1408-1410 (1990), y las Patentes de EE.UU. N°s 5.092.885, 5.112.946, 5.192.744, y 5.202.352.

50 La inhibición de procesos angiogénicos indeseados puede proporcionar un tratamiento terapéutico y/o preventivo contra la angiogénesis inadecuada o indeseada. A la inversa, la estimulación de un proceso angiogénico puede

proporcionar un tratamiento terapéutico para los estados patológicos que se beneficiarían de la angiogénesis. Los aspectos de la invención descritos en la presente memoria proporcionan compuestos antifílicos, tales como compuestos policatiónicos, por sus propiedades anti-angiogénicas. La capacidad de inhibir la angiogénesis puede proporcionar una herramienta terapéutica eficaz para modular enfermedades y/o afecciones angiogénicas.

5 Sumario de la invención

Un aspecto de la presente invención se refiere a compuestos de arilamida de la reivindicación 1 y a composiciones que contienen los compuestos de arilamida de la reivindicación 1 útiles en la modulación de la angiogénesis.

10 También se describe en la presente memoria un método para modular la angiogénesis en un animal o ser humano que lo necesita que comprende administrar a dicho animal una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto policatiónico.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere además al uso de un compuesto de arilamida de la reivindicación 1 para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno asociado a una angiogénesis excesiva en un animal o ser humano que lo necesita.

Descripción de las figuras

15 La Fig. 1 representa el efecto de los compuestos policatiónicos en el modelo de CAM de angiogénesis.

La Fig. 2 es un gráfico de barras que representa la inhibición en porcentaje del Factor Xa de los compuestos policatiónicos de la presente invención.

La Fig. 3 es un gráfico que representa el efecto del COMPUESTO 110002, un compuesto policatiónico de la presente invención, sobre el tiempo de coagulación.

20 Descripción de la invención

Se debe indicar que, tal como se usa en la presente memoria y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "uno/una", y "el/la" incluyen la referencia plural, a menos que el contexto lo dicte claramente de otra manera. Así, por ejemplo, la referencia a una "célula" es una referencia a una o más células, y los equivalentes de la misma conocidos para los expertos en la técnica, etc. A menos que se defina de otra manera, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen los mismos significados que entiende habitualmente un experto en la técnica.

Tal como se usa en la presente memoria, el término "alrededor de" significa más o menos un 10% del valor numérico del número con el que se usa. Por lo tanto, alrededor de un 50% significa en el intervalo de un 45%-55%.

30 Los términos "angiogénesis" o "neovascularización" se refieren a la generación de un suministro sanguíneo nuevo, p.ej., capilares sanguíneos, vasos, y venas, a partir del tejido de los vasos sanguíneos existentes (p.ej., la vasculatura). El proceso de la angiogénesis puede implicar varios tipos celulares tisulares que incluyen, por ejemplo, las células endoteliales que forman una monocapa de células que tapizan todos los vasos sanguíneos y están implicadas en la regulación de los intercambios entre el torrente sanguíneo y los tejidos circundantes. Se pueden desarrollar vasos sanguíneos nuevos (angiogénesis) a partir de las paredes de los vasos pequeños existentes
35 mediante el crecimiento de las células endoteliales. La angiogénesis también está implicada en el crecimiento tumoral, ya que proporciona a los tumores el suministro sanguíneo necesario para la supervivencia y proliferación (crecimiento) de las células tumorales.

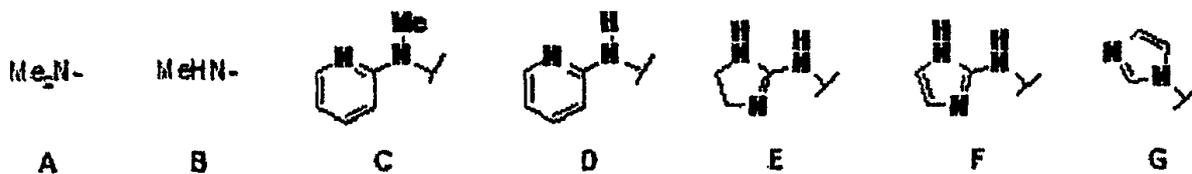
Los términos "paciente" y "sujeto" significan todos los animales, lo que incluye a los seres humanos. Los ejemplos de pacientes o sujetos incluyen seres humanos, vacas, perros, gatos, cabras, ovejas, y cerdos.

40 Una "cantidad terapéuticamente eficaz", en referencia a las composiciones farmacéuticas, es una cantidad suficiente para disminuir o prevenir los síntomas asociados a una afección médica o dolencia, para normalizar las funciones corporales en enfermedades o trastornos que dan como resultado el deterioro de funciones corporales específicas, o para proporcionar una mejora en uno o más de los parámetros medidos clínicamente de la enfermedad. En relación a la presente solicitud, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto policatiónico es una cantidad
45 suficiente para disminuir o inhibir la angiogénesis.

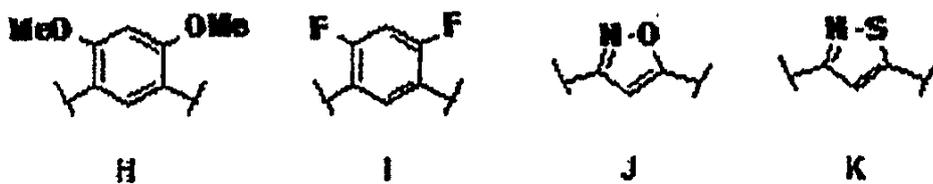
Los aspectos de la presente invención se refieren a los compuestos de arilamida de la reivindicación 1, y el uso de los mismos en el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado a una angiogénesis excesiva.

50 En general, los compuestos policatiónicos descritos en la presente memoria exhiben preferiblemente un esqueleto rígido o semi-rígido, de forma que la estructura está limitada torsionalmente, que exhibe grupos laterales cargados positivamente en una cara del esqueleto. Los grupos laterales cargados positivamente están distribuidos de manera óptima a lo largo de la longitud del esqueleto, y separados de manera óptima del esqueleto mediante un espaciador de carbono que puede contener opcionalmente uno o más heteroátomos. La libertad torsional a lo largo del esqueleto se puede estabilizar mediante la formación de enlaces de hidrógeno intramoleculares, limitaciones

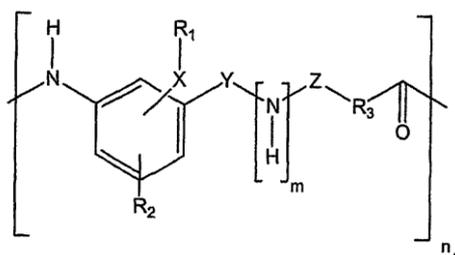
estéricas o ciclación. Aunque se describen las fórmulas preferidas de diversos compuestos policatiónicos, tales como arilamidas, hidrazidas, calixarenos y salicilamidas, otros grupos laterales adecuados que se pueden usar para estabilizar la carga positiva incluyen, por ejemplo, (A-G):



- 5 Otras aminas que se pueden usar incluyen, por ejemplo, piperidina, 4-aminopiridina, morfolina, y aminotiazol. Opcionalmente, se puede modular la basicidad de un grupo amino incorporando 1 ó 2 átomos de flúor en uno de los grupos metileno de la cadena. Otros sustituyentes del anillo central que también se pueden usar para hacer más rígido (reducir la libertad torsional) el esqueleto incluyen, por ejemplo, (H-K):



- 10 En la presente memoria se describe un compuesto de oligómero de arilamida de fórmula:

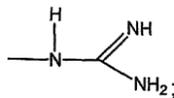


en la que

X es O o S;

R_1 es alquilo de cadena lineal o ramificada C_1-C_9 ,

- 15 en la que R_1 está sustituido opcionalmente con uno o más $-\text{NH}_2$ o

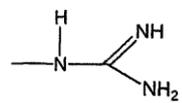


Y es un enlace o $\text{—C}(=\text{O})\text{—}$;

Z es un enlace o $\text{—C}(=\text{O})\text{—}$;

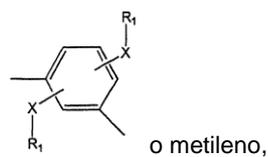
R_2 es hidrógeno o alquilo de cadena lineal o ramificada C_1-C_9 ;

en la que dicho R_2 está sustituido opcionalmente con uno o más $-\text{NH}_2$ o



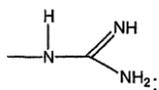
- 20 o R_2 es $-\text{X}-R_1$;

R_3 es



en la que dicho metileno está sustituido con alquilo de cadena lineal o ramificada C₁-C₉,

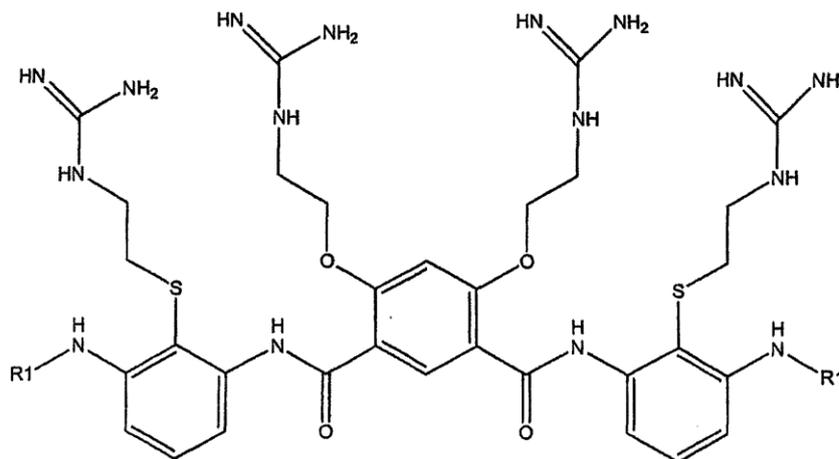
en la que dicho alquilo de cadena lineal o ramificada C₁-C₉ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂ o



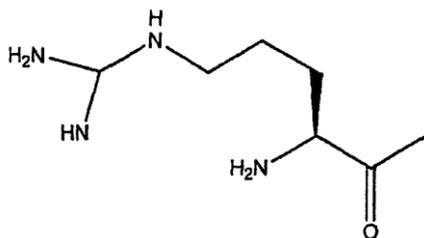
5 n es 2-10; y

m es 1 ó 2.

También se describen en la presente memoria compuestos de oligómeros de arilamida de fórmula:

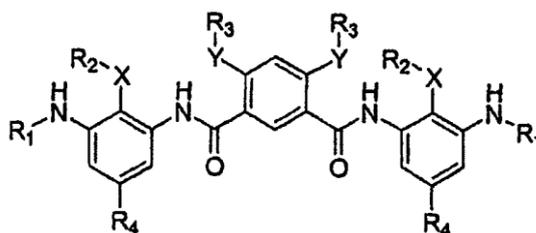


en la que R₁ es



10

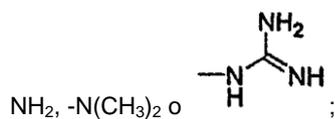
También se describe en la presente memoria una arilamida de fórmula:



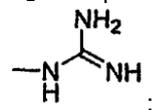
X es O o S;

Y es O o S;

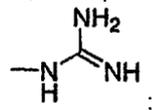
15 R₁ es H o -C(=O)-A, A alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que A está sustituido opcionalmente con uno o más -



R₂ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₂ está sustituido opcionalmente con uno o más NH₂, -N(CH₃)₂ o



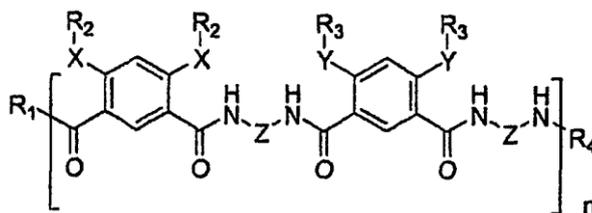
R₃ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₃ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o



5

R₄ es H, -B o -C(=O)-O-B, en la que B es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉.

También se describen en la presente memoria compuestos policatiónicos, que son compuestos de hidrazida de fórmula:



10 en la que

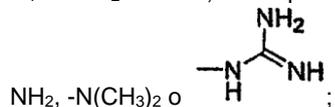
n = 1 a 10;

X es O o S;

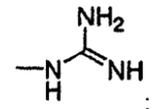
Y es O o S;

Z es un enlace, alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, o un 1,4-ciclohexilo

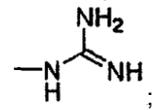
15 R₁ es NH₂ o NH-A, en la que A es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que A está sustituido opcionalmente con -



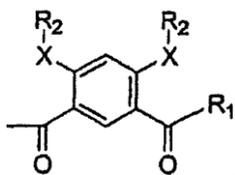
R₃ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₂ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o



R₃ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₃ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o

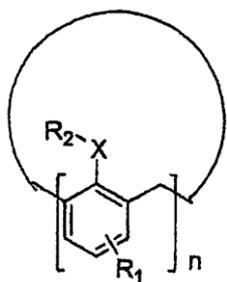


20



R₄ es H o

También se describen en la presente memoria compuestos policatiónicos que son calixarenos de fórmula:



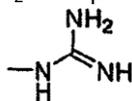
en la que

$n = 2-8$, más preferiblemente 4-8;

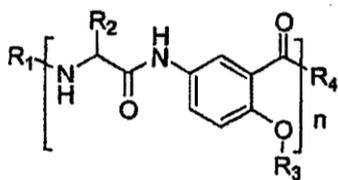
X es un enlace, O o $-O-CH_2-C(=O)-O-$,

5 R_1 es -A o -O-A, en la que A es alquilo lineal o ramificado C_1 a C_9 ;

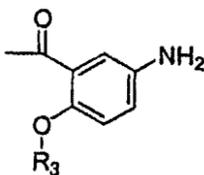
R_2 es alquilo lineal o ramificado C_1 a C_9 , en la que R_2 está sustituido opcionalmente con uno o más $-NH_2$, $-N(CH_3)_2$ o



También se describen en la presente memoria compuestos policatiónicos que son salicilamidas de fórmula:

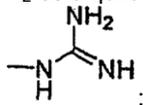


10 n es 2 a 10;

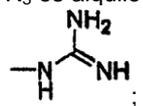


R_2 es H o

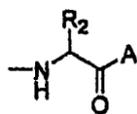
R_2 es alquilo lineal o ramificado C_1 a C_9 , en la que R_2 está sustituido opcionalmente con uno o más $-NH_2$, $-N(CH_3)_2$ o



R_3 es alquilo lineal o ramificado C_1 a C_9 , en la que R_2 está sustituido opcionalmente con uno o más $-NH_2$, $-N(CH_3)_2$ o



15



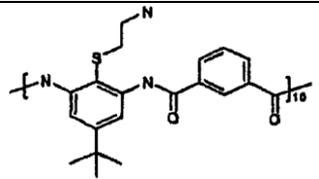
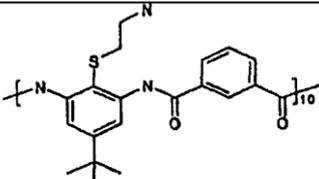
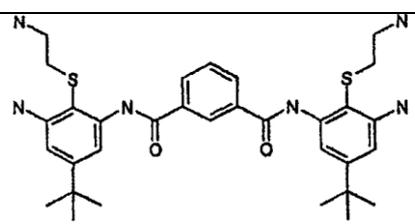
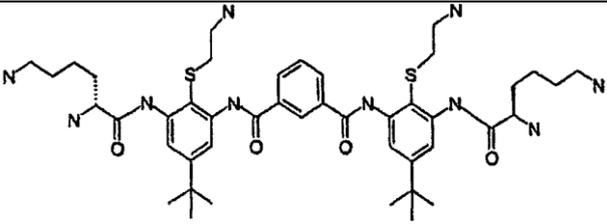
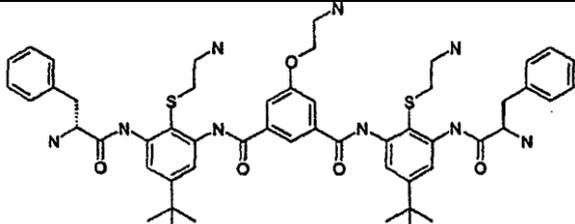
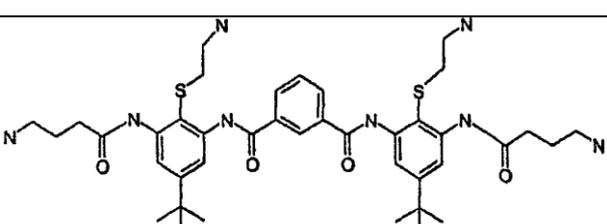
R_4 es OH, NH_2 o , en la que A es OH o NH_2 .

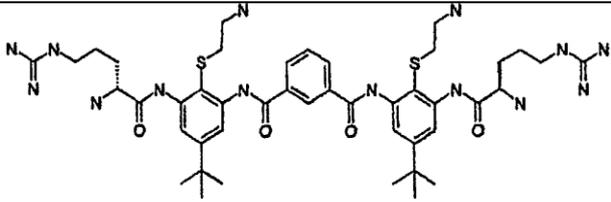
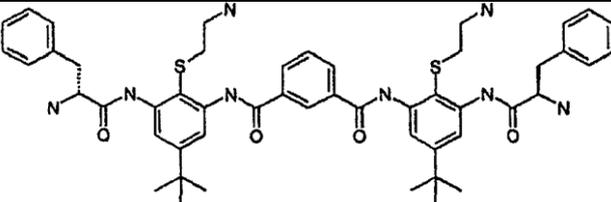
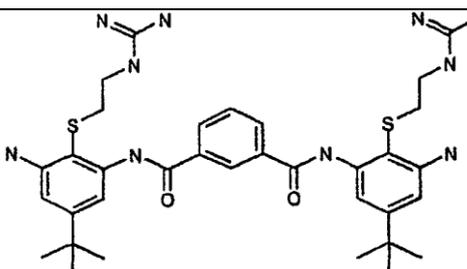
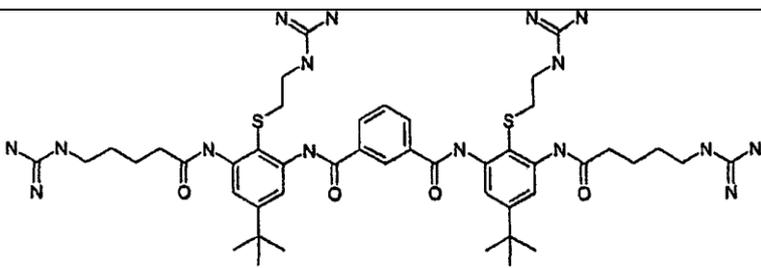
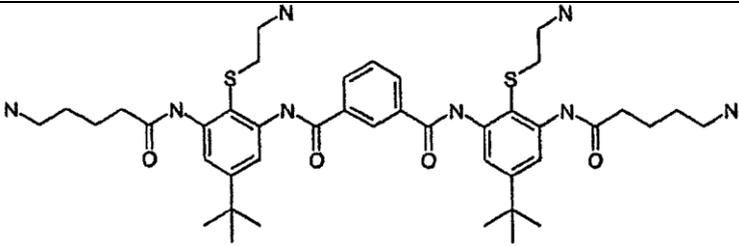
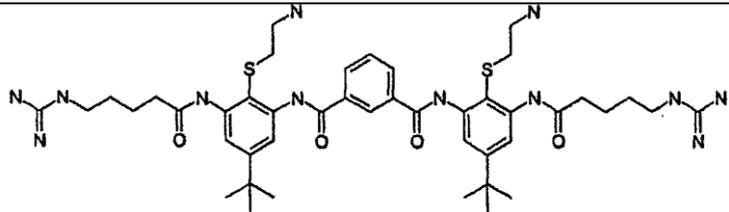
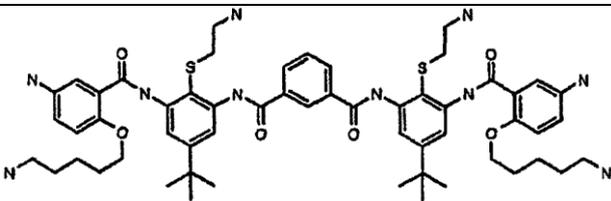
20 El compuesto policatiónico de la invención se selecciona del grupo que consiste en Compuesto 4, Compuesto 13, Compuesto 18, Compuesto 19, Compuesto 20, Compuesto 21, Compuesto 22, Compuesto 23, Compuesto 25, Compuesto 26, Compuesto 27, Compuesto 28, Compuesto 29, Compuesto 30, Compuesto 33, tal como se representa más adelante en la Tabla 1.

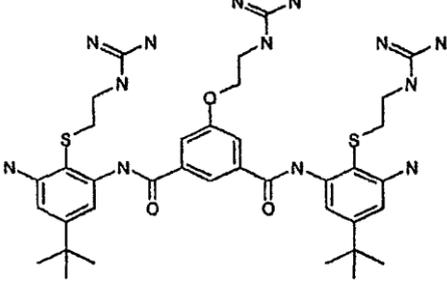
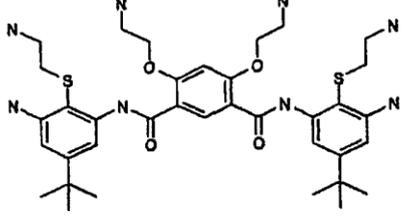
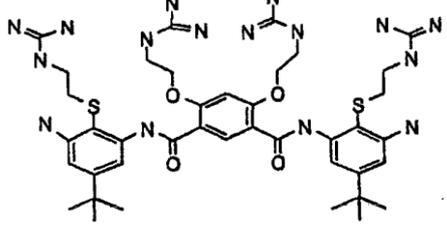
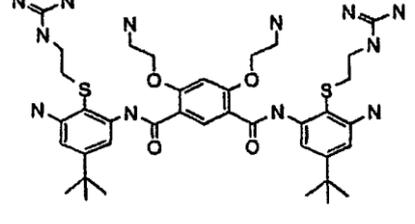
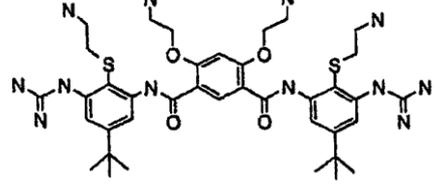
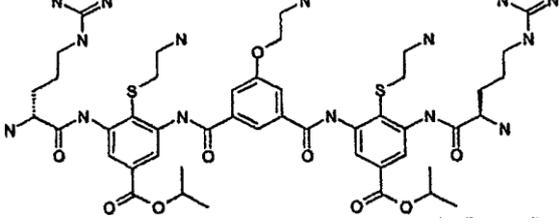
Aunque el Compuesto 1 y el Compuesto 2 comprenden la misma estructura de arilamida, los Compuestos 1 y 2 se

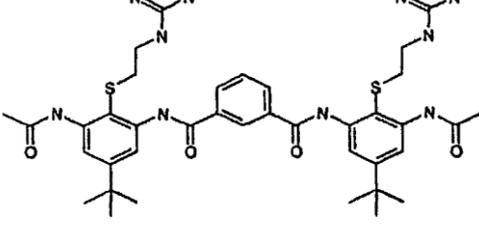
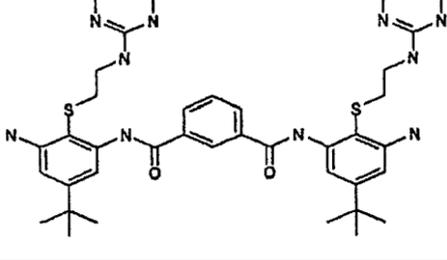
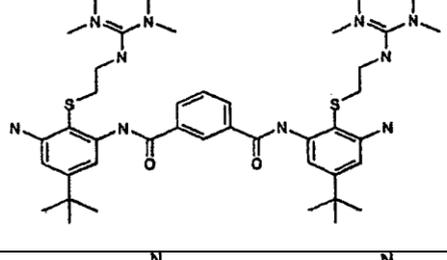
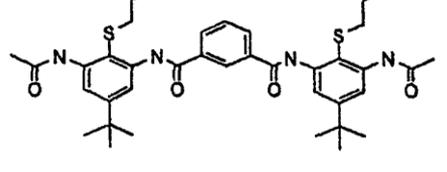
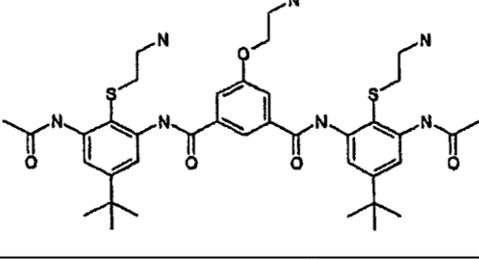
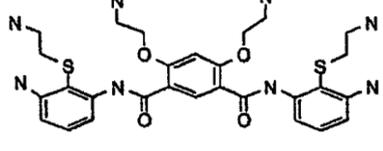
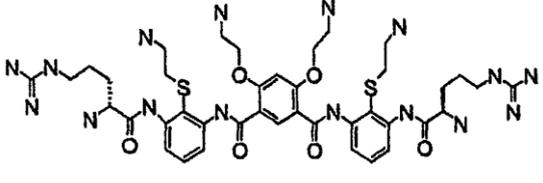
se sintetizan en condiciones diferentes y exhiben purzas diferentes. Durante la polimerización, se usó DCM (diclorometano) como disolvente para el Compuesto 2 y se usó NMP (1-metil-2-pirrolidinona) para el Compuesto 1. La polimerización es menos eficaz en NMP, por lo tanto el Compuesto 1 es $n=2-10$, y $n=10$ para el Compuesto 2.

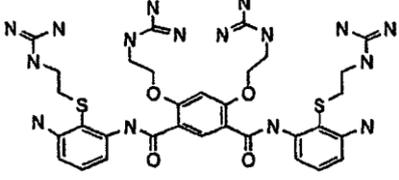
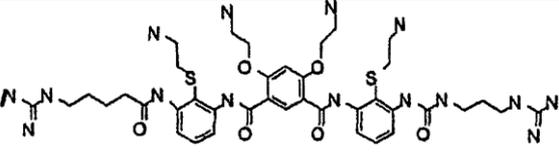
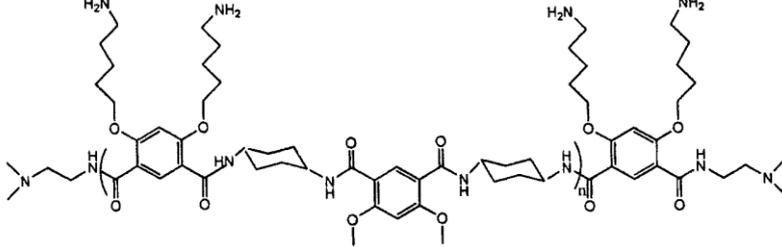
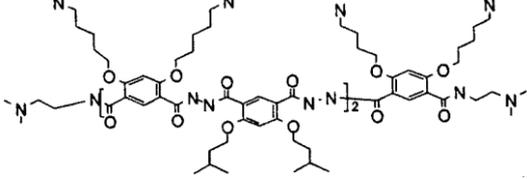
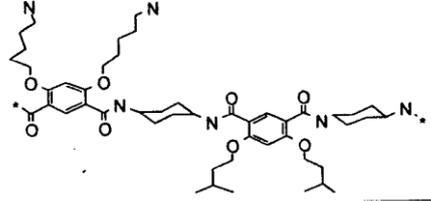
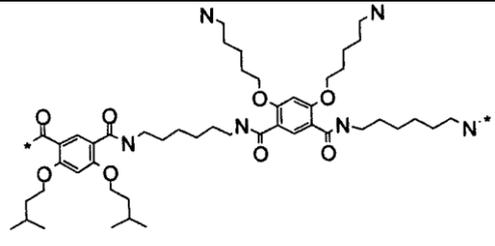
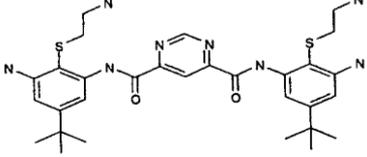
Tabla 1. Compuestos Policatiónicos.

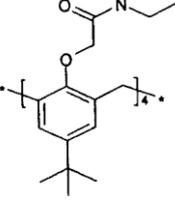
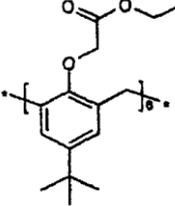
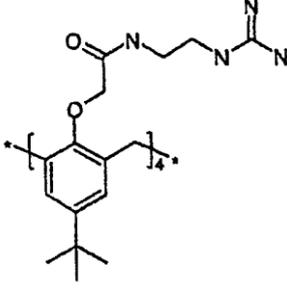
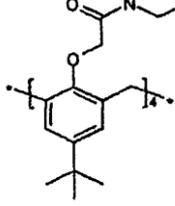
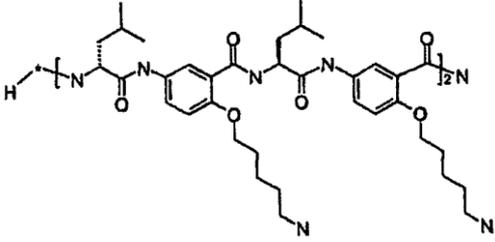
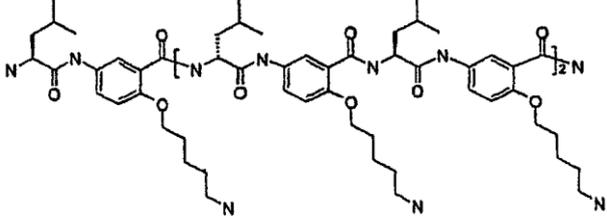
Compuesto	Estructura
Compuesto 1 *	
Compuesto 2 *	
Compuesto 3 *	
Compuesto 4	
Compuesto 5 *	
Compuesto 6 *	

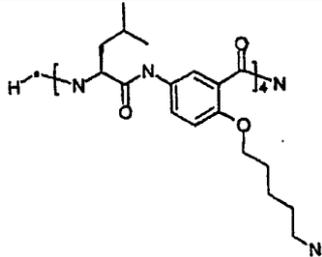
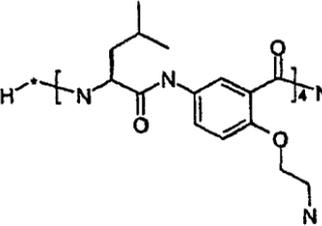
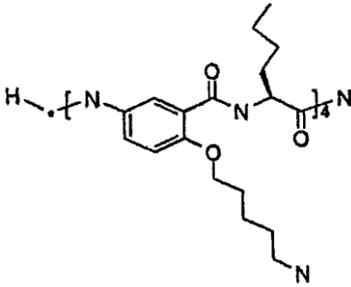
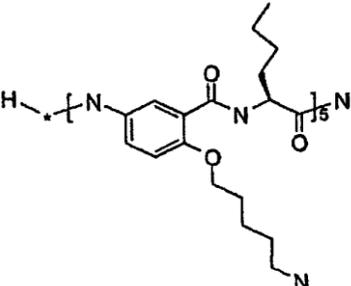
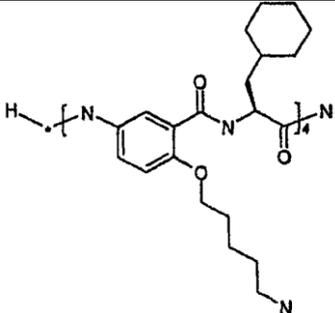
Compuesto	Estructura
Compuesto 7 *	
Compuesto 8 *	
Compuesto 9 *	
Compuesto 10 *	
Compuesto 11 *	
Compuesto 12 *	
Compuesto 13	

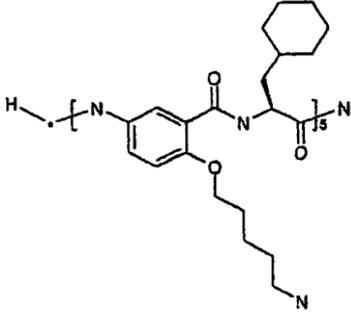
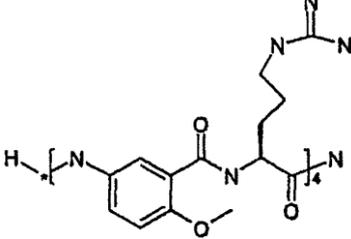
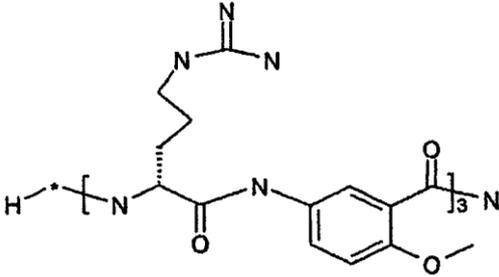
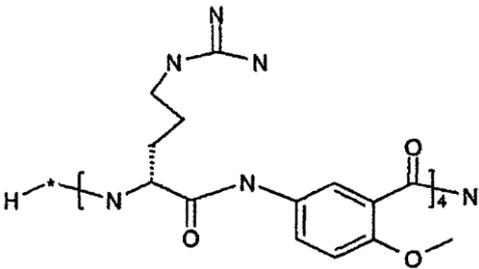
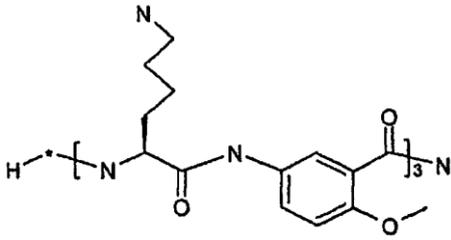
Compuesto	Estructura
Compuesto 14 *	
Compuesto 15 *	
Compuesto 16 *	
Compuesto 17 *	
Compuesto 18	
Compuesto 19	

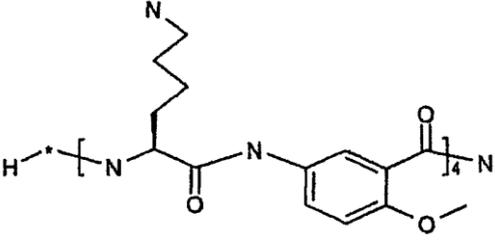
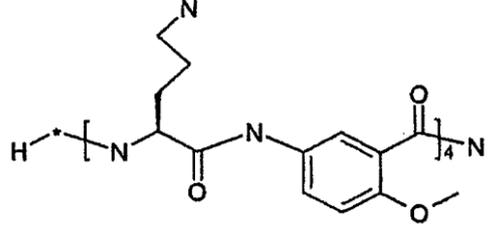
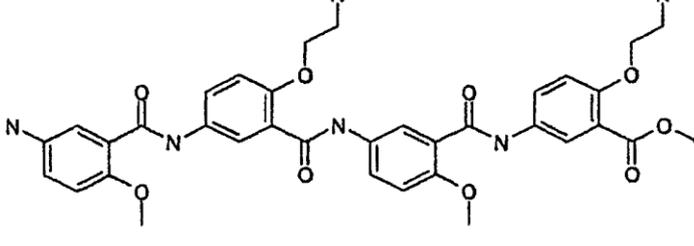
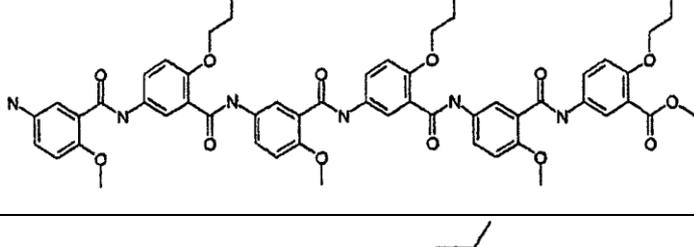
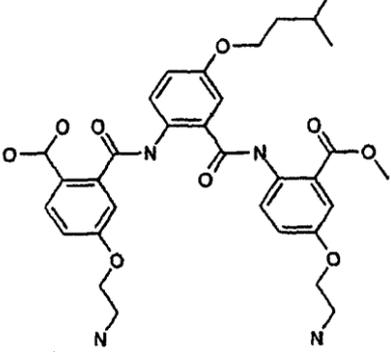
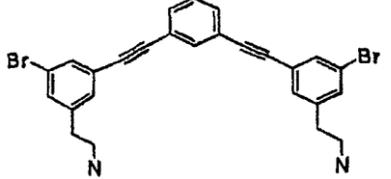
Compuesto	Estructura
Compuesto 20	
Compuesto 21	
Compuesto 22	
Compuesto 23	
Compuesto 24 *	
Compuesto 25	
Compuesto 26	

Compuesto	Estructura
Compuesto 27	
Compuesto 28	
Compuesto 29	 <p data-bbox="766 974 989 1008">en la que n = 1 a 10</p>
Compuesto 30	
Compuesto 31 *	
Compuesto 32 *	
Compuesto 33	

Compuesto	Estructura
Compuesto 34 *	
Compuesto 35 *	
Compuesto 36 *	
Compuesto 37 *	
Compuesto 38 *	
Compuesto 39 *	

Compuesto	Estructura
Compuesto 40 *	
Compuesto 41 *	
Compuesto 42 *	
Compuesto 43 *	
Compuesto 44 *	

Compuesto	Estructura
Compuesto 45 *	
Compuesto 46 *	
Compuesto 47 *	
Compuesto 48 *	
Compuesto 49 *	

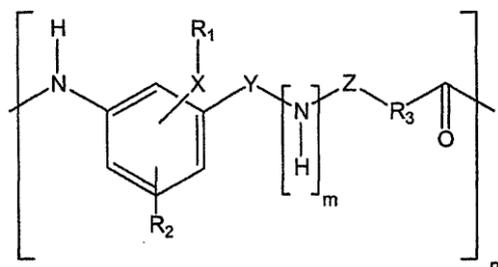
Compuesto	Estructura
Compuesto 50 *	
Compuesto 51 *	
Compuesto 52 *	
Compuesto 53 *	
Compuesto 54 *	
Compuesto 55 *	

* Comparativo

En realizaciones más preferidas, el compuesto policatiónico comprende el Compuesto 26, Compuesto 28, o Compuesto 29, o una combinación de los mismos.

Se describe en la presente memoria un compuesto para modular la angiogénesis que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto policatiónico.

5 Se describe en la presente memoria un compuesto de oligómero de arilamida de fórmula:

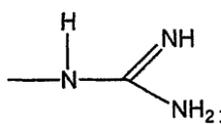


en la que

X es O o S;

R₁ es alquilo de cadena lineal o ramificada C₁-C₉,

10 en la que R₁ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂ o

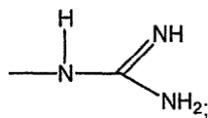


Y es un enlace o

Z es un enlace o

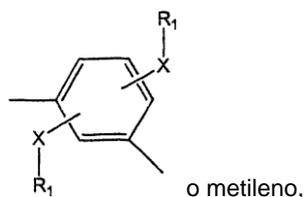
R₂ es hidrógeno o alquilo de cadena lineal o ramificada C₁-C₉;

15 en la que dicho R₂ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂ o



o R₂ es -X-R₁;

R₃ es



en la que dicho metileno está sustituido con alquilo de cadena lineal o ramificada C₁ a C₉,

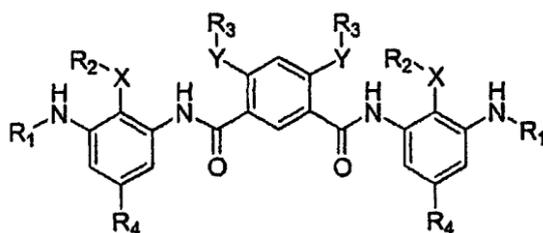
en la que dicho alquilo de cadena lineal o ramificada C₁ a C₉ está sustituido opcionalmente con uno o más NH₂ o

20

n es 2-10; y

m es 1 ó 2.

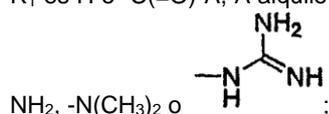
También se describe en la presente memoria una arilamida de fórmula:



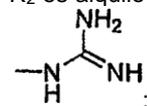
X es O o S;

5 Y es O o S;

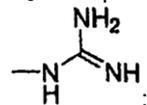
R₁ es H o -C(=O)-A, A alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que A está sustituido opcionalmente con uno o más -



R₂ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₂ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o

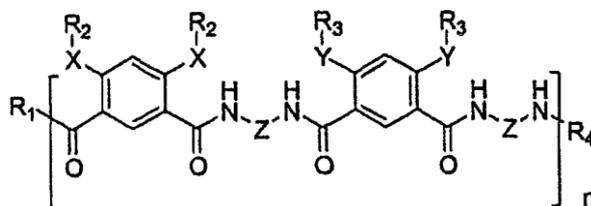


10 R₃ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₃ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o



R₄ es H, -B o -C(=O)-O-B, en la que B es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉.

También se describe en la presente memoria una hidrazida de fórmula:



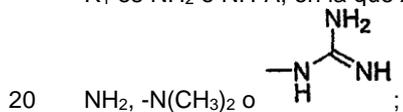
15 n = 1 a 10;

X es O o S;

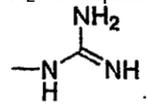
Y es O o S;

Z es un enlace, alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, o un 1,4-ciclohexilo

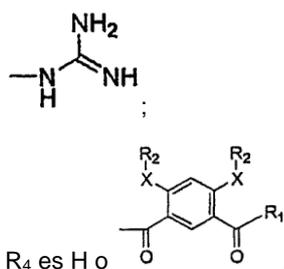
R₁ es NH₂ o NH-A, en la que A es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que A está sustituido opcionalmente con -



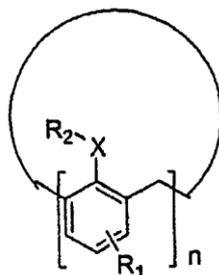
R₂ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₂ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o



R₃ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₃ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o



También se describe en la presente memoria un calixareno de fórmula:

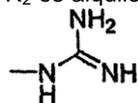


5 n = 2-8, más preferiblemente 4-8;

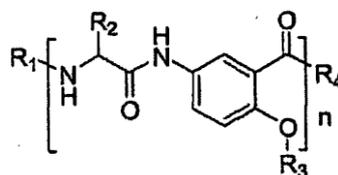
X es un enlace, O o -O-CH₂-C(=O)-O-

R₁ es -A o -O-A, en la que A es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉;

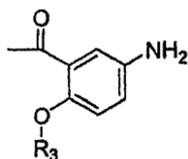
R₂ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₂ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o



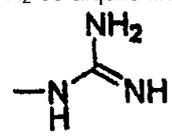
10 También se describe en la presente memoria una salicilamida de fórmula:



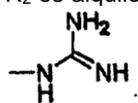
n es 2 a 10;

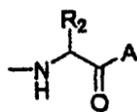


R₂ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₂ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o



15 R₂ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₂ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o



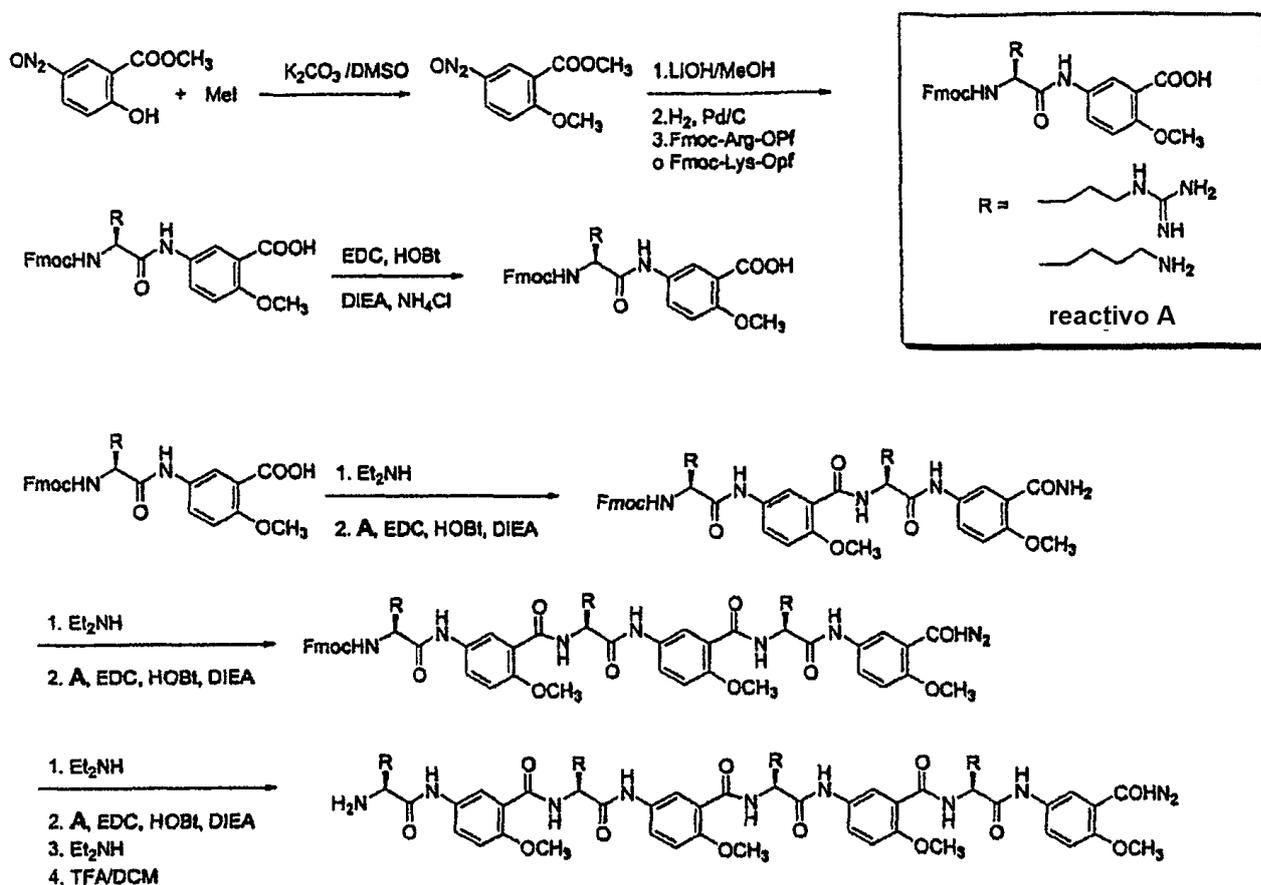


R₂ es OH, NH₂ o , en la que A es OH o NH₂.

Se describen en la presente memoria compuestos que comprenden el Compuesto 1, Compuesto 2, Compuesto 3, Compuesto 4, Compuesto 5, Compuesto 6, Compuesto 7, Compuesto 8, Compuesto 9, Compuesto 10, Compuesto 11, Compuesto 12, Compuesto 13, Compuesto 14, Compuesto 15, Compuesto 16, Compuesto 17, Compuesto 18, 5 Compuesto 19, Compuesto 20, Compuesto 21, Compuesto 22, Compuesto 23, Compuesto 24, Compuesto 25, Compuesto 26, Compuesto 27, Compuesto 28, Compuesto 29, Compuesto 30, Compuesto 33, Compuesto 34, Compuesto 35, Compuesto 36, Compuesto 37, Compuesto 38, Compuesto 39, Compuesto 40, Compuesto 41, Compuesto 42, Compuesto 43, Compuesto 44, Compuesto 45, Compuesto 46, Compuesto 47, Compuesto 48, 10 Compuesto 49, Compuesto 50, Compuesto 51, Compuesto 52, Compuesto 53, Compuesto 54, Compuesto 55, o una combinación de los mismos.

También se describen compuestos que comprenden el Compuesto 26, Compuesto 28, Compuesto 29, Compuesto 34, Compuesto 48, o Compuesto 50 o una combinación de los mismos.

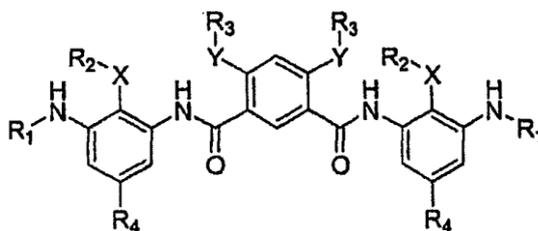
Se pueden sintetizar compuestos policatiónicos de salicilamida como sigue:



15 Se describe en la presente memoria un compuesto para modular la angiogénesis que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto policatiónico.

En una realización, el compuesto puede contener una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto policatiónico para inhibir la angiogénesis.

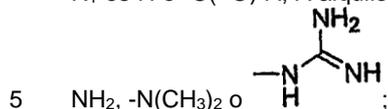
Se describe en la presente memoria una arilamida de fórmula:



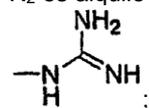
X es O o S;

Y es O o S;

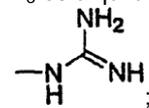
R₁ es H o -C(=O)-A, A alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que A está sustituido opcionalmente con uno o más -



R₂ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₂ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o

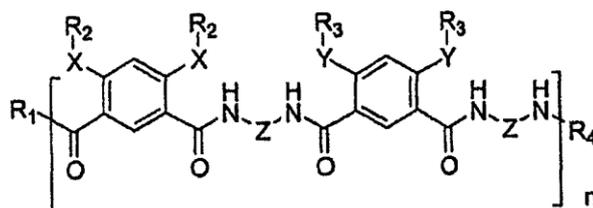


R₃ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₃ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o



10 R₄ es H, -B o -C(=O)-O-B, en la que B es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉.

También se describe en la presente memoria una hidrazida de fórmula:



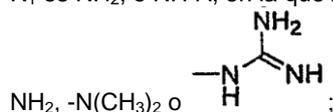
n = 1 a 10;

X es O o S;

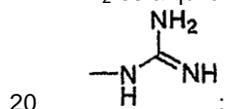
15 Y es O o S;

Z es un enlace, alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, o un 1,4-ciclohexilo;

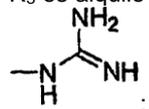
R₁ es NH₂, o NH-A, en la que A es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que A está sustituido opcionalmente con -

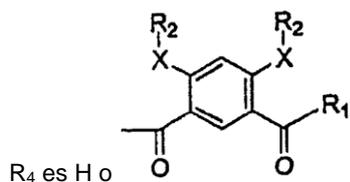


R₂ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₂ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o

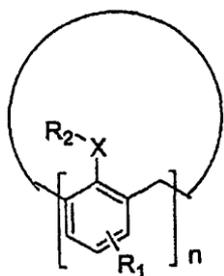


R₃ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₃ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o





También se describe en la presente memoria un calixareno de fórmula:

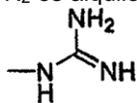


n = 2-8, más preferiblemente 4-8;

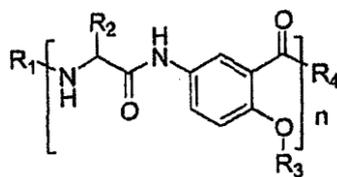
5 X es un enlace, O o -O-CH₂-C(=O)-O-,

R₂ es -A o -O-A, en la que A es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉;

R₂ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₂ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o

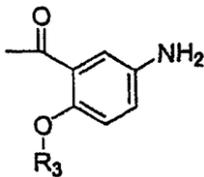


También se describe en la presente memoria una salicilamida de fórmula:

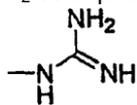


10

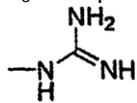
n es 2 a 10;



R₂ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₂ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o



15 R₃ es alquilo lineal o ramificado C₁ a C₉, en la que R₂ está sustituido opcionalmente con uno o más -NH₂, -N(CH₃)₂ o



R₄ es OH, NH₂, o , en la que A es OH o NH₂.

En un aspecto de la descripción, los compuestos policatiónicos de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado a la angiogénesis. Se describen en la presente memoria los compuestos que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz del Compuesto 26, Compuesto 28, Compuesto 29, Compuesto 34, Compuesto 48, o Compuesto 50 o una combinación de los mismos.

- 5 Algunos de los compuestos policatiónicos descritos en la presente memoria se pueden usar para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno asociado a una angiogénesis insuficiente. Tales enfermedades incluyen, por ejemplo, ictus, cardiopatía, úlceras, infertilidad y esclerodermia.

En una realización de la invención, los compuestos policatiónicos se pueden usar para tratar o prevenir una enfermedad o trastorno asociado a una angiogénesis excesiva. Tales enfermedades incluyen, por ejemplo, cáncer, artritis reumatoide, complicaciones del SIDA, psoriasis y ceguera.

En general, el cáncer se refiere a cualquier crecimiento o tumor maligno provocado por una división celular anormal y descontrolada; se puede extender a otras partes del organismo por medio del sistema linfático o del torrente sanguíneo. El cáncer incluye tanto los tumores sólidos como los tumores de transmisión hemática. Los tumores sólidos incluyen el sarcoma de Kaposi, hemangiomas, tumores sólidos, tumores de transmisión hemática, cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer ovárico, cáncer testicular, cáncer de colon, rabdomiosarcoma, retinoblastoma, sarcoma de Ewing, neuroblastoma, y osteosarcoma. La angiogénesis también está asociada a los tumores de transmisión hemática, tales como leucemias, cualquiera de las diversas enfermedades neoplásicas agudas o crónicas de la médula ósea en las que se da una proliferación descontrolada de leucocitos, normalmente acompañada por anemia, coagulación sanguínea alterada, y agrandamiento de los nódulos linfáticos, hígado y bazo. Se cree que la angiogénesis desempeña un papel en las anomalías de la médula ósea que dan lugar a tumores similares a la leucemia.

En otra realización de la invención, la enfermedad o trastorno es cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de vejiga, cáncer pancreático, glioblastoma, neuroblastoma, ceguera, degeneración macular, retinopatía diabética, trasplante de córnea, degeneración miópica, complicaciones relacionadas con el SIDA, artritis, artritis reumatoide, y psoriasis. Por ejemplo cánceres, artritis inflamatoria (tal como artritis reumatoide), retinopatía diabética, así como otras enfermedades neovasculares del ojo (por ejemplo, neovascularización córnea, glaucoma neovascular, fibroplasia retrolenticular y degeneración macular), malformaciones arteriovenosas, afecciones de sangrado excesivo (menorragia), síndrome de Osler-Webber, angiogénesis miocárdica, neovascularización de placas, telangiectasia, artropatía hemofílica, angiofibroma, y granulación de heridas. Las composiciones anti-angiogénicas proporcionadas en la presente memoria son útiles también en el tratamiento de enfermedades de una estimulación excesiva o anormal de las células endoteliales. Estas enfermedades incluyen adherencias intestinales, enfermedad de Crohn, aterosclerosis, esclerodermia, y cicatrices hipertróficas (es decir, queloides).

Otros trastornos adecuados mediados por la angiogénesis que se pueden tratar o prevenir con los compuestos policatiónicos proporcionados incluyen tumores y trastornos asociados al cáncer (p.ej., crecimiento tumoral retiniano, tumores benignos (p.ej., hemangiomas, neuromas acústicos, neurofibromas, tracomas, y granulomas piógenos), tumores sólidos, tumores de transmisión hemática (p.ej., leucemias, angiofibromas, y sarcoma de Kaposi), metástasis tumorales, y otros cánceres que requieren la neovascularización para mantener el crecimiento tumoral), trastornos neovasculares oculares (p.ej., retinopatía diabética, degeneración macular, retinopatía de la prematuridad, glaucoma neovascular, rechazo del injerto de córnea, y otros trastornos mediados por la angiogénesis ocular), trastornos inflamatorios (p.ej., inflamación inmunitaria y no inmunitaria, artritis reumatoide, reumatismo articular crónico, enfermedades inflamatorias intestinales, psoriasis, y otros trastornos inflamatorios crónicos), endometriosis, otros trastornos asociados a una invasión inadecuada o inoportuna de vasos (p.ej., fibroplasia retrolenticular, rubeosis, y proliferación de capilares en placas ateroscleróticas y osteoporosis), síndrome de Osler-Webber, angiogénesis miocárdica, neovascularización de placas, telangiectasia, artropatía hemofílica, y granulación de heridas. Los expertos en la técnica conocen otras enfermedades en las que la angiogénesis desempeña un papel en el mantenimiento o la progresión del estado patológico, y se pretende incluirlas de forma similar en el significado de la expresión "mediado por la angiogénesis" usada en la presente memoria.

En una realización, los compuestos policatiónicos se usan junto con otros inhibidores de la angiogénesis. Se conocen en la técnica inhibidores angiogénicos, y se pueden preparar mediante métodos conocidos. Para una descripción de inhibidores angiogénicos y objetivos véase, por ejemplo, Chen et al., *Cancer Res.* 55:4230-4233 (1995), Good et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:6629-6628 (1990), O'Reilly et al., *Cell* 79:315-328 (1994), Parangi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:2002-2007 (1996), Rastinejad et al., *Cell* 56:345-355 (1989), Gupta et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:7799-7803 (1995), Maione et al., *Science* 247:77-79 (1990), Angiolillo et al., *J. Exp. Med.* 182:155-162 (1995), Strieter et al., *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 210:51-57 (1995); Voest et al., *J. Natl. Cancer Inst.* 87:581-586 (1995), Cao et al., *J. Exp. Med.* 182:2069-2077 (1995), y Clapp et al., *Endocrinology* 133:1292-1299 (1993), que se incorporan en la presente memoria como referencia en su totalidad. Para una descripción de inhibidores angiogénicos adicionales véase, por ejemplo, Blood et al., *Bioch. Biophys. Acta.*, 1032:89-118 (1990), Moses et al., *Science*, 248:1408-1410 (1990), Ingber et al., *Lat. Invest.*, 59:44-51 (1988), y las Patentes de EE.UU. N°s 5.092.885 y 5.112.946.

En otra realización, los compuestos policatiónicos se usan junto con otras terapias, tales como las terapias anti-inflamatorias habituales, terapias oculares habituales, terapias dérmicas habituales, radioterapia, cirugía de tumores, y quimioterapia convencional dirigida contra tumores sólidos y para el control del establecimiento de metástasis. La administración del inhibidor de la angiogénesis se lleva a cabo en general durante o después de la quimioterapia en un momento en el que el tejido tumoral debería responder al ataque tóxico induciendo la angiogénesis para recuperarse mediante la provisión de un suministro de sangre y nutrientes al tejido tumoral. Además, se prefiere administrar tales inhibidores de la angiogénesis tras una cirugía en la que se han eliminado tumores sólidos como profilaxis contra la metástasis. Los agentes citotóxicos o quimioterápicos son los conocidos en la técnica, tales como aziridina, tiotepa, sulfonato de alquilo, nitrosoureas, complejos de platino, agentes alquilantes clásicos de NO, análogos de folato, análogos de purina, análogos de adenosina, análogos de pirimidina, urea sustituida, antibióticos antitumorales, agentes de microtúbulos, y asparaginasa.

Otro aspecto de esta invención se refiere al uso de compuestos policatiónicos como se define en las reivindicaciones en la inhibición de procesos mediados por la angiogénesis solos o en combinación con otras terapias existentes anti-inflamatorias, anti-angiogénesis, anti-cáncer, y oculares. Los compuestos policatiónicos representan una estrategia eficaz para la prevención y el tratamiento de trastornos mediados por la angiogénesis en el cáncer, enfermedades inflamatorias, y oculares.

Los compuestos descritos anteriormente se pueden administrar en una formulación que incluye compuestos policatiónicos y derivados junto con un vehículo aceptable para el modo de administración. Se puede usar cualquier formulación o sistema de administración de fármacos que contenga los ingredientes activos, que sea adecuado para el uso deseado, como conocen en general los expertos en la técnica. Los expertos en la técnica conocen los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados para la administración oral, rectal, tópica o parenteral (que incluye subcutánea, intraperitoneal, intramuscular e intravenosa). El vehículo debe ser farmacéuticamente aceptable en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no perjudicial para el receptor del mismo.

Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen de manera conveniente una preparación acuosa estéril del compuesto activo, que es preferiblemente isotónica con la sangre del receptor. Así, tales formulaciones pueden contener de manera conveniente agua destilada, 5% de dextrosa en agua destilada o solución salina. Las formulaciones útiles también incluyen disoluciones concentradas o sólidos que contienen el compuesto de fórmula (I), que tras la dilución con un disolvente adecuado proporcionan una disolución adecuada para la administración parenteral anterior.

Para la administración enteral, se puede incorporar un compuesto en un vehículo inerte en unidades discretas tales como cápsulas, obleas, comprimidos o pastillas, y cada una contiene una cantidad predeterminada del compuesto activo; en forma de un polvo o gránulos; o una suspensión o disolución en un líquido acuoso o líquido no acuoso, p.ej., un jarabe, un elixir, una emulsión o un jarabe. Los vehículos adecuados pueden ser almidones o carbohidratos, e incluyen lubricantes, aromatizantes, aglutinantes, y otros materiales de la misma naturaleza.

Se puede producir un comprimido mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes secundarios. Se pueden preparar comprimidos comprimiendo en una máquina adecuada el compuesto activo en una forma de flujo libre, p.ej., un polvo o gránulos, opcionalmente mezclados con ingredientes secundarios, p.ej., agentes aglutinantes, lubricantes, diluyentes inertes, tensioactivos o dispersantes. Los comprimidos moldeados se pueden hacer moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto activo pulverizado con cualquier vehículo adecuado.

Se puede hacer un jarabe o suspensión añadiendo el compuesto activo a una disolución acuosa concentrada de un carbohidrato, p.ej., sacarosa, a la que se puede añadir también cualquier ingrediente secundario. Tales ingredientes secundarios pueden incluir aromatizantes, un agente para retardar la cristalización del carbohidrato o un agente para incrementar la solubilidad de cualquier otro ingrediente, p.ej., un polialcohol, por ejemplo, glicerol o sorbitol.

Las formulaciones para administración rectal se pueden presentar en forma de un supositorio con un vehículo convencional, p.ej., manteca de cacao o Witepsol S55 (marca comercial de Dynamite Nobel Chemical, Alemania), para una base de supositorio.

De manera alternativa, el compuesto se puede administrar en liposomas o microesferas (o micropartículas). Los expertos en la técnica conocen bien los métodos para preparar liposomas y microesferas para la administración a un paciente. La Pat. de EE.UU. nº 4.789.734 describe métodos para encapsular materiales biológicos en liposomas. Básicamente, el material se disuelve en una disolución acuosa, se añaden los fosfolípidos y lípidos adecuados, junto con tensioactivos si es necesario, y el material se somete a diálisis o sonicación, según sea necesario. Se proporciona una revisión de los métodos conocidos por G. Gregoriadis, capítulo 14, "Liposomes", *Drug Carriers in Biology and Medicine*, págs. 287-341 (Academic Press, 1979).

Los expertos en la técnica conocen bien las micro-esferas o nano-esferas formadas de polímeros o proteínas, y se pueden adaptar para el paso a través del tracto gastrointestinal directamente hasta el torrente sanguíneo. De manera alternativa, el compuesto se puede incorporar y las micro-esferas/nano-esferas, o un compuesto de ambas,

se puede implantar para una liberación lenta a lo largo de un periodo de tiempo que oscila de días a meses. Véanse, por ejemplo, las Pat. de EE.UU. n°s 4.906.474, 4.925.673 y 3.625.214, y Jein, TIPS 19:155-157 (1998).

5 Los compuestos policatiónicos de la presente invención exhiben efectos anti-angiogénicos *in vitro* e *in vivo*. Además, los compuestos policatiónicos de la presente invención exhiben efectos antagonistas contra la heparina. Aunque no se desea limitarse por la teoría, los efectos anti-angiogénicos de los compuestos policatiónicos se pueden deber, al menos en parte, a la capacidad de los compuestos policatiónicos de antagonizar el papel de la heparina en facilitar la activación de los receptores de FGF y VEGF.

10 Para los ejemplos siguientes, se obtuvieron diversos materiales como sigue. Todos los reactivos fueron de grado químico y se adquirieron de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO) o a través de VWR Scientific (Bridgeport, NJ). Acetato de cortisona, albúmina de suero bovino (BSA), y disolución de gelatina (2% de tipo B de piel bovina) se adquirieron de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). El medio de crecimiento M199 con sales de Earl, FGF básico, complemento de Insulina-Transferrina-Selenio-G (I-T-Se) 100X, solución salina tamponada con fosfato (PBS) de Dulbecco con y sin Ca^{+2} y Mg^{+2} , y EDTA 0,5 M se obtuvieron de Gibco BRL (Grand Island, NY). Las células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC), medio basal para células endoteliales (exento de suero, EBM), medio de crecimiento endotelial (EGM) (complementado con factores de crecimiento, suero bovino fetal), y disolución de un 0,025% de tripsina/0,01% de EDTA se adquirieron de Clonetics Inc. (San Diego, CA). Las células de tumor de próstata humano (TSU-Pr) se obtuvieron de la American Type Culture Collection (Rockville, MD). La matriz Matrigel® y el colágeno humano de tipo III se adquirieron de Becton Dickinson (Bedford, MA). Las disoluciones de fijación y tinción HEMA-3 se adquirieron de Biochemical Sciences, Inc. (Swedesboro, NJ). Se adquirieron huevos de gallina fertilizados de Charles River Laboratories, SPAFAS Avian Products & Services (North Franklin, CT). La neovascularización *in vivo* se examinó mediante el método previamente descrito por Auerbach et al. (Auerbach et al., *J. Dev. Biol.*, 41:391-394 (1974)).

Ejemplo 1

25 El ejemplo siguiente ilustra el efecto anti-angiogénico de los compuestos policatiónicos ejemplares de la presente invención. Se adquirieron embriones de diez días de edad de Spafas, Inc. (Preston, CT) y se incubaron a 37 °C con un 55% de humedad relativa. En la oscuridad con la ayuda de una lámpara ovoscopio, se perforó un pequeño orificio en la cáscara que cubría la cámara de aire con una aguja hipodérmica. Se perforó un segundo orificio en la cáscara sobre el costado del huevo directamente a lo largo de una porción avascular de la membrana embrionaria, como se observó durante la ovoscopia. Se creó una falsa cámara de aire por debajo del segundo orificio mediante la aplicación de una presión negativa en el primer orificio, lo que provocó que la membrana corioalantoidea (CAM) se separase de la cáscara. Se recortó una ventana, de aproximadamente 1,0 cm², en la cáscara a lo largo de la CAM desprendida con el uso de una pequeña muela abrasiva artesanal (Dremel, división de Emerson Electric Company Racine, Wisconsin) que permitió el acceso directo a la CAM subyacente. Se empaparon discos de filtro de papel n°1 (Whatman International, Reino Unido) en 3 mg/mL de acetato de cortisona (Sigma, St. Louis, MO) en una disolución de un 95% de etanol y agua, y posteriormente se secaron al aire en condiciones estériles. Se usó FGF2 (Life Technologies, Gaithersburg, Maryland) para hacer crecer los vasos sobre las CAMs de embriones de pollo de 10 días de edad. Se colocaron discos de filtro estériles en los que se adsorbió FGF2 disuelto en PBS a 1 µg/mL sobre las CAMs en crecimiento. Se colocaron discos de filtro estériles en los que se adsorbió FGF2 disuelto en PBS a 1 µg/mL sobre la CAM en crecimiento. A las 24 h, se añadieron de manera tópica compuestos de ensayo o vehículo de control directamente a la CAM.

40 Se extrajo el tejido de la CAM directamente por debajo del disco de filtro saturado con FGF2 de embriones tratados 48 horas antes con el compuesto de ensayo o el control. Los tejidos se lavaron tres veces con PBS. Se colocaron cortes en una placa de Petri de 35 mm (Nalgen Nunc, Rochester, Nueva York) y se examinaron con un estereomicroscopio SV6 (Karl Zeiss, Thornwood, Nueva York) a un aumento de 50X. Se recogieron imágenes digitales de los cortes de CAM adyacentes a los filtros mediante el uso de un sistema de cámara de video en color 3-CCD (Toshiba America, Nueva York, NY) y se analizaron mediante el uso del paquete informático Image-Pro Plus (Media Cybernetics, Silver Spring, MD). La Tabla 4 contiene el número de puntos de ramificación de vasos contenidos en una región circular igual al área de un disco de filtro contado para cada corte.

50 Se extrajo el tejido de la CAM directamente por debajo del disco de filtro saturado con FGF2 de embriones tratados 48 h antes con el compuesto o el control. Los tejidos se lavaron tres veces con PBS. Se colocaron cortes en una placa de Petri de 35 mm (Nalgen Nunc, Rochester, Nueva York) y se examinaron con un estereomicroscopio SV6 (Karl Zeiss, Thornwood, Nueva York) a un aumento de 50X. Se recogieron imágenes digitales de los cortes de CAM adyacentes a los filtros mediante el uso de un sistema de cámara de video en color 3-CCD (Toshiba America, Nueva York, NY) y se analizaron con el paquete informático Image-Pro Plus (Media Cybernetics, Silver Spring, MD). Los efectos de los compuestos policatiónicos sobre la angiogénesis se muestran en las Tablas 2, 3 y 4. Los efectos también se muestran en la Figura 1.

Tabla 2: Eficacia anti-angiogénesis de los compuestos policatiónicos en el modelo de CAM

Tratamiento de CAM	Puntos de ramif. ± EEM	% de Inhibición ± EEM
PBS (control)	69 ± 16,0	
FgF (1,0 ug/ml)	155 ± 10	
Compuesto 29 (1,2 ug) + FGF2 (1 ug)	82 ± 5	85 ± 6

Los datos representan la media + EEM, n=8

Tabla 3: Eficacia anti-angiogénesis de los compuestos policatiónicos en el modelo de CAM

Tratamiento de CAM	Puntos de ramif. ± EEM	% de Inhibición ± EEM
PBS (control)	80 ± 7	
FgF2 (1,0 ug/ml)	177 ± 10	
Compuesto 26 (1,0 ug) + FGF2 (1 ug)	123 ± 7	55 ± 8
* Compuesto 34 (1,0 ug) + FGF2 (1 ug)	156 ± 9	21 ± 9
* Compuesto 40 (0,1 ug) + FGF2 (1 ug)	142 ± 6	36 ± 6
* Compuesto 36 (1,0 ug) + FGF2 (1 ug)	156 ± 6	21 ± 6
Compuesto 33 (1,0 ug) + FGF2 (1 ug)	160 ± 18	17 ± 18
Compuesto 27 (0,1 ug) + FGF2 (1 ug)	144 ± 9	34 ± 9

* Comparativo

Tabla 4. Eficacia anti-angiogénesis de los compuestos policatiónicos en el modelo de CAM

Grupos de Tratamiento	% de inhibición media ± EEM
PBS (Control)	
FGF2 (1,0 ug/ml)	
* Compuesto 50 (1,0 ug) + FGF2 (1 ug)	21 ± 9
* Compuesto 50 (3,0 ug) + FGF2 (1 ug)	42 ± 8
* Compuesto 50 (10 ug) + FGF2 (1 ug)	66 ± 7
* Compuesto 48 (1,0 ug) + FGF2 (1 ug)	16 ± 6
* Compuesto 48 (3,0 ug) + FGF2 (1 ug)	38 ± 8
* Compuesto 48 (10 ug) + FGF2 (1 ug)	55 ± 7

Los datos representan la media ± EEM, n = 8

* Comparativo

5 Como se representa en las Tablas 2, 3 y 4 anteriores, los compuestos policatiónicos bloquearon la angiogénesis inducida por FGF2 en el modelo de CAM de angiogénesis.

Ejemplo 2

10 El ejemplo siguiente ilustra la inhibición de la formación de tubos de células endoteliales por los compuestos policatiónicos de la presente invención. La diferenciación por las células endoteliales se examinó mediante el uso de un método desarrollado por Grant et al. (Grant et al., *In Vitro Cell Dev Biol.*, 27A:327-336 (1991)). Se descongeló la matriz Matrigel®, exenta de rojo fenol (comercialmente disponible de Becton Dickinson, Bedford, MA) durante la noche a 4 °C. Mediante el uso de puntas de pipeta frías, se colocaron 3,0 mg/pocillo de la matriz Matrigel® en una

placa fría de veinticuatro pocillos. La matriz Matrigel[®] se dejó polimerizar durante la incubación a 37 °C durante 30 minutos.

5 Se mantuvieron células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC) a 37 °C con un 5% de CO₂ y un 95% de humedad en medio de cultivo de células endoteliales con un 2% de suero bovino fetal (EGM). El ensayo en tubo se llevó a cabo en medio basal de células endoteliales (EBM) complementado con un 0,5% de albúmina de suero bovino (BSA) y complemento diluido 1:100 de Insulina-Transferrina-Selenio-G (I-T-Se, 100X). Las HUVEC se tripsinizaron y se centrifugaron y, posteriormente, se lavaron dos veces en solución salina tamponada con fosfato (PBS). Después del recuento, se ajustó la densidad celular a 35.000 células/mL.

10 Una concentración final de 35.000 células/mL/pocillo se trató con factor de crecimiento de fibroblastos (FGF2) humano recombinante básico a 100 ng/ml, y los compuestos policatiónicos (véase la Tabla 1B) disueltos en medio EBM. Las células tratadas se incubaron durante la noche a 37 °C con un 5% de CO₂ y un 95% de humedad para permitir la adhesión celular.

15 Posteriormente, se aspiró el medio y las células se fijaron y se tiñeron mediante el uso de un equipo de tinción HEMA-3 modificado. Se recogieron imágenes digitales de secciones de los pocillos de microtitulación mediante el uso de un sistema de cámara de vídeo en color 3-CCD DKC5000 (Toshiba America, Nueva York, NY) y se analizaron mediante el uso del paquete informático Image-Pro Plus (Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland). La área y la longitud del eje principal de las células teñidas que tenían una morfología tubular se midió en la superficie de la matriz Matrigel[®] (Becton Dickinson, Bedford, PA), contados de 5 imágenes/pocillo.

20 Tal como se ilustra en la Tabla 5 siguiente, los compuestos policatiónicos son inhibidores potentes de la formación de tubos de CE *in vitro*.

Tabla 5. Eficacia anti-angiogénesis del compuesto policatiónico en el ensayo de formación de tubos de células endoteliales humanas

Grupos de Tratamiento	% de Inhibición media ± EEM
Compuesto 29 (0,01 ug)	25 ± 7
Compuesto 29 (0,1 ug)	42 ± 5
Compuesto 29 (1,0 ug)	76 ± 6

Los datos representan la media ± EEM, n = 3

Ejemplo 3

25 Este ejemplo se refiere a ensayos de migración celular. Estos ensayos se llevaron a cabo mediante el uso de una cámara de quimiotaxia desechable de 96 pocillos Neuroprobe con un tamaño de poro de 8 µm. Esta cámara permitió la cuantificación de la migración celular hacia un gradiente de vitronectina u osteopontina. Se extrajeron células cultivadas siguiendo un método estandarizado mediante el uso de EDTA / Tripsina (0,01% / 0,025%). Tras la extracción, las células se lavaron dos veces y se resuspendieron (2x10⁶ /ml) en EBM (medio basal de células endoteliales, Clonetics Inc.). Se añadió vitronectina u osteopontina (33 µl) a 0,0125 -100 µg/ml a los pocillos inferiores de una cámara de quimiotaxia desechable, y después se montó mediante el uso del filtro colocado previamente. La suspensión de células (45 µl) se añadió a una placa de polipropileno que contenía 5 µl de agente de ensayo a diferentes concentraciones y se incubó durante 10 minutos a 22 °C. Se añadieron 25 µl de suspensión de células / agente de ensayo a los pocillos del filtro superior y después se incubó durante la noche (22 horas a 37 °C) en un incubador de cultivos celulares humidificado. Tras la incubación durante la noche, se extrajeron con cuidado las células que no migraron y el exceso de medio mediante el uso de una pipeta de 12 canales y un raspador de células. Los filtros se lavaron después dos veces en PBS (sin Ca⁺² ni Mg⁺²) y se fijaron con un 1% de formaldehído. Las membranas de las células migradas se permeabilizaron con Triton X-100 (0,2 %) y después se lavaron 2-3 veces con PBS. Los filamentos de actina de las células migradas se tiñeron con rodamina-faloidina (12,8 UI/ml) durante 30 minutos (22 °C). La rodamina-faloidina se hizo nueva semanalmente y se reutilizó durante hasta 3 días, y se almacenó protegida de la luz a 4 °C. La quimiotaxia se determinó cuantitativamente mediante la detección de fluorescencia con el uso de un Cytofluor II (530 excitación / 590 emisión). Todo el tratamiento de las células y los lavados posteriores se llevaron a cabo mediante el uso de un puesto de tratamiento/lavado diseñado exclusivamente. Este puesto consistió en seis unidades de reactivos individuales cada uno con una capacidad de 30 ml. Las unidades individuales se rellenaron con uno de los reactivos siguientes: PBS, formaldehído, Triton X-100, o rodamina-faloidina. Mediante el uso de esta técnica, los filtros se sumergieron suavemente en la disolución adecuada, minimizando así la pérdida de células migradas. Esta técnica permitió la cuantificación máxima de la migración celular y proporcionó resultados reproducibles con una variabilidad mínima inter- e intra-ensayo (Bozarth et al, *Methods In Cell Science*, 19 (3): 179-187, 1997; Penno et al, *J. Method In Cell Science*, 19 (3): 189-195, 1997).

50 Como se ilustra en la Tabla 6 siguiente, los compuestos policatiónicos de la presente invención inhiben la migración de células endoteliales de vena umbilical humana.

Tabla 6. Efecto del compuesto policatiónico sobre el ensayo de migración de células endoteliales humanas

Grupos de Tratamiento	% de Inhibición media \pm EEM
Compuesto 29 (0,01 μ M)	19 \pm 2
Compuesto 29 (0,1 μ M)	40 \pm 3
Compuesto 29 (1,0 μ M)	67 \pm 5

Los datos representan la media \pm EEM, n = 3

Ejemplo 4

El siguiente ejemplo ilustra los efectos antagonistas hacia la heparina de los compuestos policatiónicos de la presente invención. Para determinar la actividad anti-heparina de los compuestos policatiónicos, se llevó a cabo un ensayo que midió el porcentaje de inhibición mediante el uso de una concentración fija de compuesto policatiónico o concentraciones de compuestos policatiónicos que provocan la lisis del 50% de los eritrocitos humanos.

Se disolvieron 10 UI de anti-trombina en 10 ml de tampón, lo que dio como resultado una disolución de reserva de 1 UI/ml (250x) de anti-trombina. La disolución de reserva de 1 IU/ml (250x) de anti-trombina y una disolución de reserva 336 mM de NaCl se diluyeron en un volumen total de 50 μ l de tampón, de forma que la concentración final de anti-trombina fue 0,004 UI/pocillo de muestra y la de NaCl fue 150 mM/pocillo de muestra. Se añade 1 μ l del compuesto a ensayar, concentración final 10 μ g/ml (que corresponde a una dilución logarítmica de antagonista de 0,5) al pocillo de muestra. Las muestras se mezclan y se dejan incubar a temperatura ambiente durante 20 minutos. Se añaden 50 μ l de factor Xa disuelto en tampón al pocillo de muestra a una concentración final de 0,14 knat/pocillo (2 μ l de la disolución de reserva de 7,1 knat/ml a un volumen final de tampón en el pocillo de muestra de 100 μ l). Las muestras se mezclaron y se incubaron adicionalmente a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se añadieron 10 μ l de una disolución de reserva 4 mM del sustrato S-2765 a cada pocillo de muestra para una concentración final de 0,4 mM en cada pocillo de muestra. Las muestras se mezclaron y se monitorizó la hidrólisis del sustrato cromogénico Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA (S-2765), lo que liberó el grupo cromofórico pNA (p-nitroanilina), a 405 nm. Las muestras se mezclaron cada 30 segundos para mantener una mezcla uniforme. Se usó un espectrofotómetro ThermoLabSystems Multiskan Spectrum para medir los espectros de absorbancia. El incremento de absorbancia fue proporcional a la actividad de la enzima (factor Xa). El % de inhibición del factor Xa se determinó mediante el uso de una curva patrón. Los resultados se representan en la Tabla 7. Se presenta un gráfico de barras que también ilustra el porcentaje de inhibición en la Figura 2.

Tabla 7. % de Inhibición del Factor Xa: Concentración única (10 μ g/ml)

Compuesto n°	% inhibición	Compuesto n°	% de Inhibición
* 9	16,24689847	25	0
* 10	20,80146834	26	48,14324
* 11	1,903402332	27	8,885942
* 12	9,381054349	28	44,29708
13	36,84443085	30	49,96431121
* 24	1,835423677	31	75,45630672
* 5	39,767513	32	23,1127426
19	59,82121614	33	32,01794636
* 15	5,710206995	* 34	99,99660107
* 14	40,99112879	* 37	62,40440502
* 17	15,02328269	* 35	79,60300466
18	13,25583767	* 38	65,05557255
* 1	22,29699874	* 39	56,49026206
* 2	41,05910744	41	7,817545291

Compuesto nº	% inhibición	Compuesto nº	% de Inhibición
4	0,951701166	46	59,14142959
* 3	2,855103498	42	79,46704735
* 6	2,583188879	43	59,68525883
* 7	5,506271031	45	77,83555963
* 8	7,409673363	44	74,36864824
* 9	10,87658475	52	45,47772
20	7,851534618	53	43,03048843
21	1,495530403	54	19,98572448
22	1,291594439	55	46,49739982
23	1,223615785	Magainina	4,418612556
* 16	30,38645865	Magainina-T	23,1127426

* Comparativo

Como se ilustra en la Figura 2 y la Tabla 7 anterior, los compuestos policatiónicos de la presente invención inhibieron el Factor Xa.

Inhibición del Factor Xa: CE50. Para determinar la concentración de compuesto policatiónico que provoca alrededor de un 50% de lisis de eritrocitos humanos, se usaron concentraciones fijas de heparina y se añadieron diferentes cantidades de antagonistas de heparina. Los resultados se representan en la Tabla 8.

5

Tabla 8. Inhibición del Factor Xa: CE50

Compuesto	PM	CE ₅₀ (μ M)	CH ₅₀ (μ g/ml)	CH ₅₀ (μ M)
Compuesto 27	783	9,7	>2.000	
Compuesto 25	615	5,3	>2.000	
Compuesto 26	927	2,0	>2.000	
* Compuesto 7	921	3,7	715	519
* Compuesto 50	1126	0,36	637	377
* Compuesto 48	1238	0,077	261	144
* Compuesto 47	933	5,54		
* Compuesto 51	1070	16,7		
* Compuesto 49	849	22		

* Comparativo

Como se ilustra en la Tabla 7 anterior, los compuestos policatiónicos de la presente invención exhiben grados variables de inhibición del Factor Xa.

Ejemplo 5

10 El ejemplo siguiente ilustra el efecto de un compuesto policatiónico de la presente invención sobre el tiempo de coagulación. Se usó el ensayo anti-heparina como se describió en la presente memoria. El ensayo contuvo 1 mg/L, 2 mg/L o 4 mg/l de heparina, y se añadieron cantidades crecientes del Compuesto 26. La Tabla 9 y la Figura 3 representan el efecto del Compuesto 26 sobre el tiempo de coagulación.

Tabla 9. Efecto del Compuesto 26 sobre el tiempo de coagulación y la eficacia de la heparina

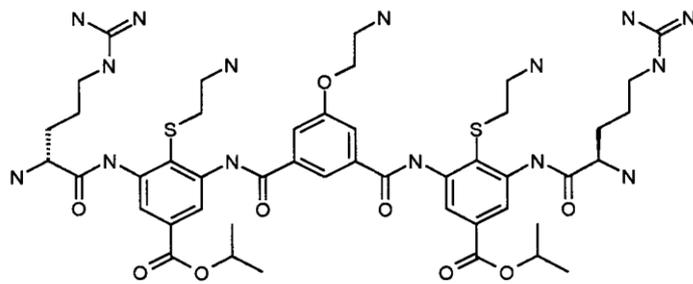
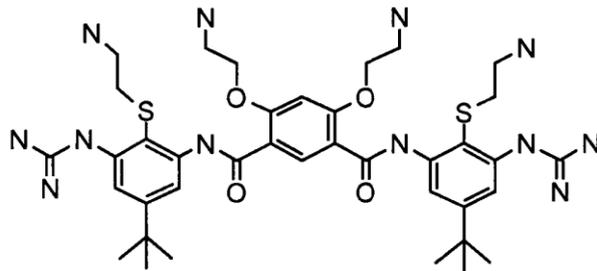
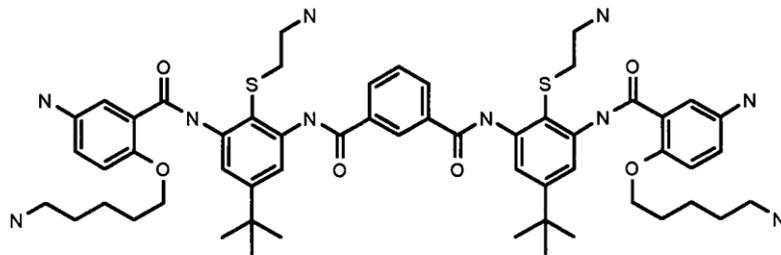
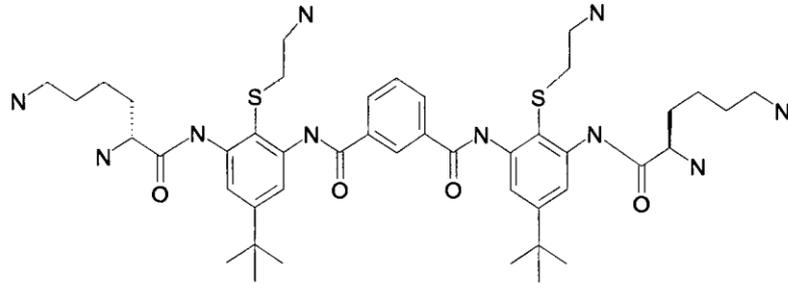
Heparina (mg/L)	Compuesto 26 (mg/L)	Tiempo de Coagulación (s)	Eficacia de la Heparina
1	0	50,8	1
1	1,25	42,8	0,65065
1	2	33,4	0,24017
1	2,5	31,3	0,14847
1	4	27,9	-1,67E-08
2	0	110,8	1
2	2,5	40,2	0,11083
2	4	33,9	0,031486
2	5	31,9	0,0062972
2	6	31,8	0,0050378
2	10	34,4	0,037783
4	0	214,9	1
4	2,5	124,8	0,51297
4	4	87,4	0,31081
4	5	55,8	0,14
4	6	35,4	0,02973
	10	29,9	-2,06E-09

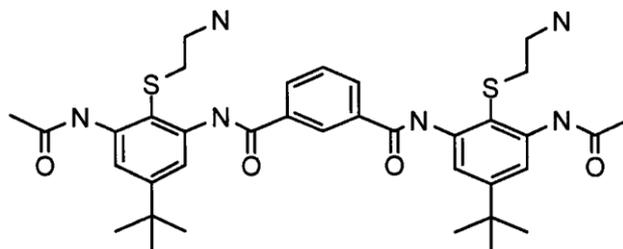
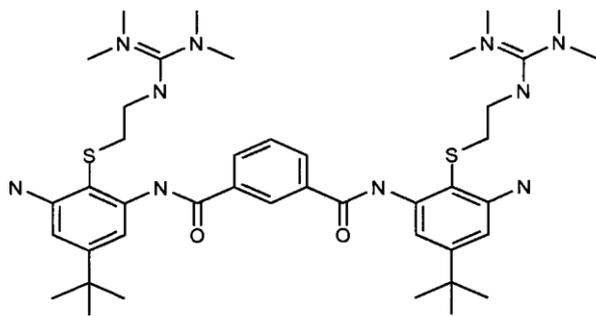
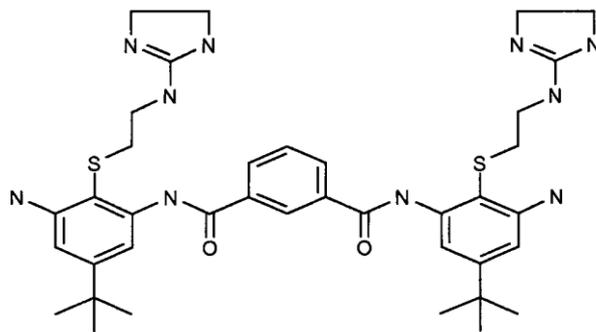
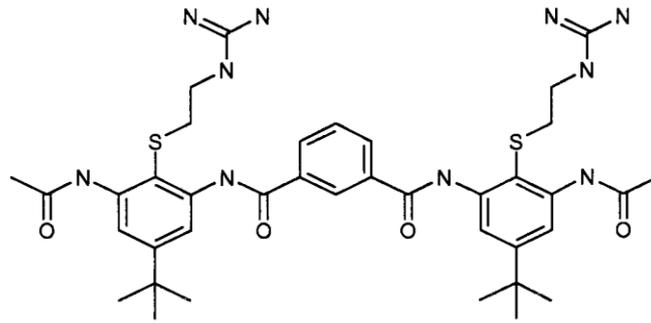
5 Como se ilustra en la Figura 3 y la Tabla 9, anteriormente, el Compuesto 26, un compuesto policatiónico de la presente invención, disminuyó el tiempo de coagulación a concentraciones variables de heparina, lo que pone de manifiesto la capacidad del compuesto de antagonizar la actividad de la heparina.

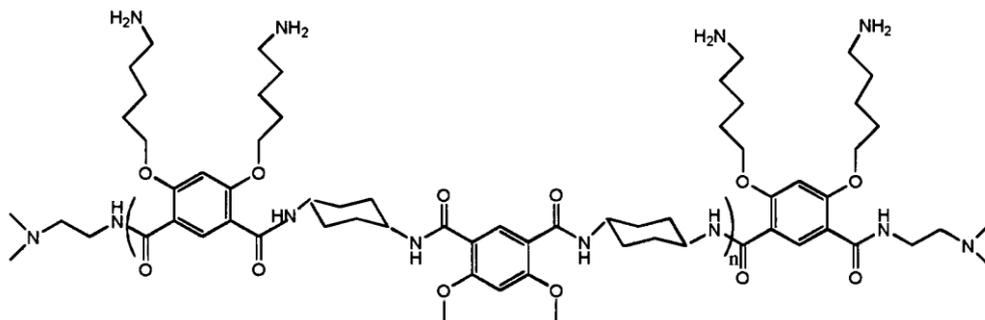
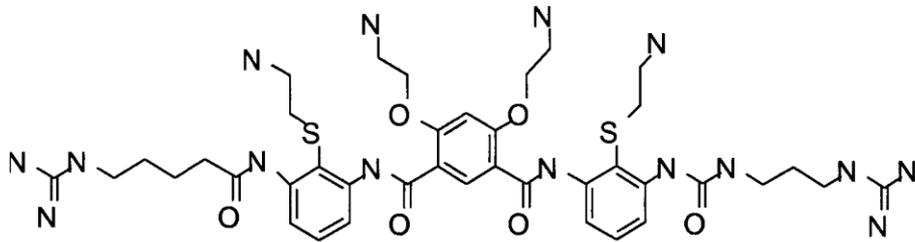
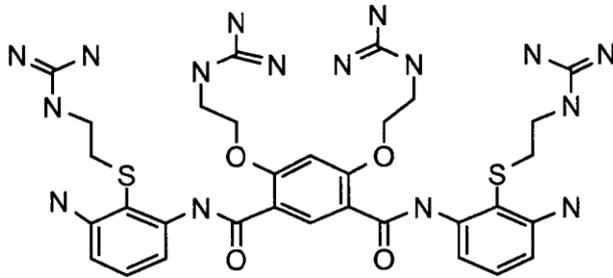
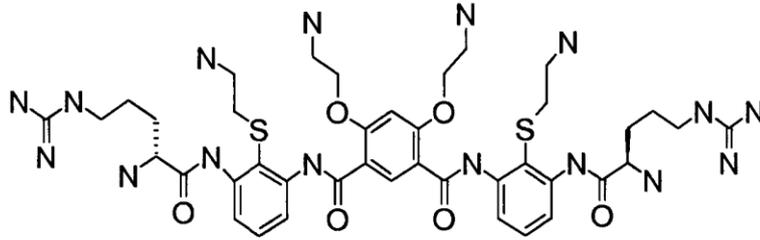
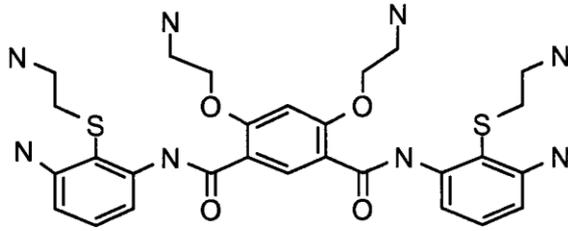
Se pretende que la memoria descriptiva y los ejemplos se consideren ejemplares solamente, y el alcance auténtico de la invención se indica mediante las reivindicaciones siguientes.

REIVINDICACIONES

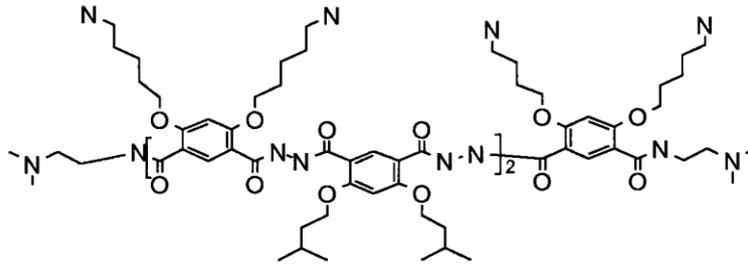
1. Un compuesto de arilamida elegido de



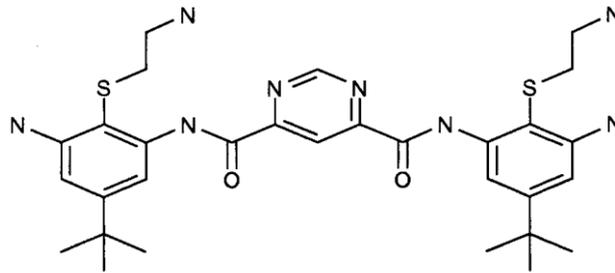




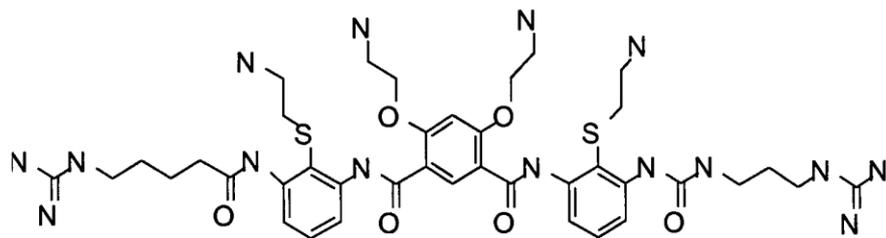
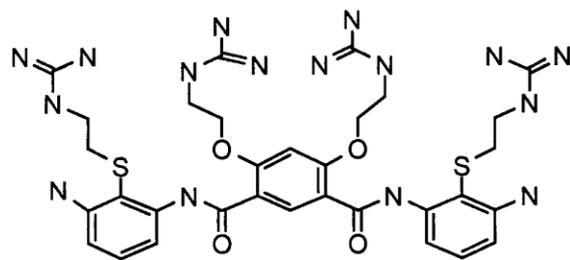
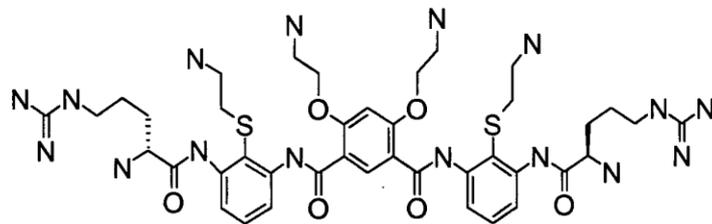
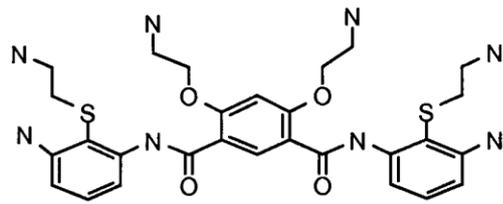
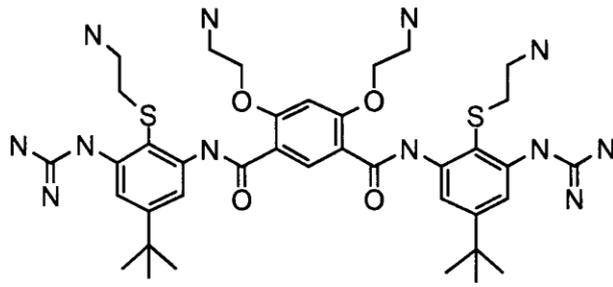
en la que n = 1 a 10,



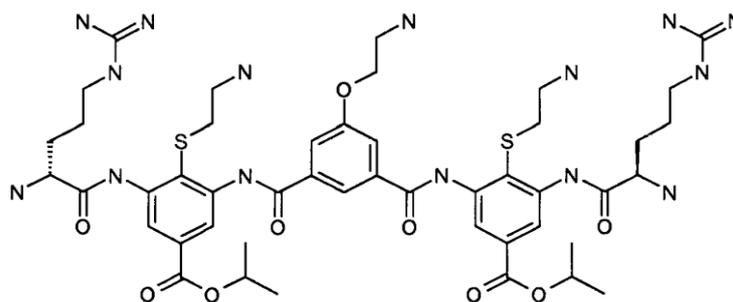
y



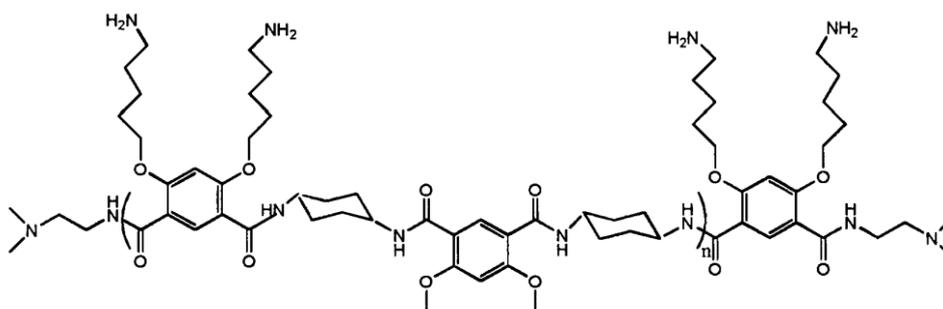
2. El compuesto de arilamida según la reivindicación 1 elegido de



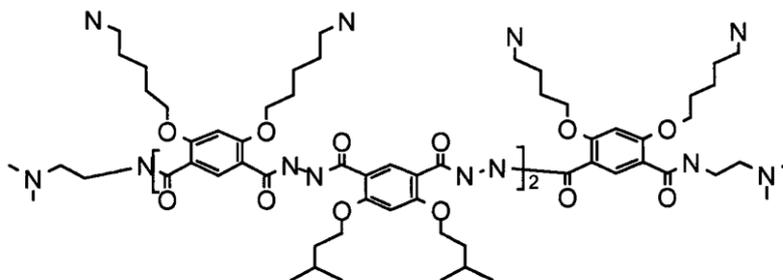
3. El compuesto de arilamida según la reivindicación 1 elegido de



4. El compuesto de arilamida según la reivindicación 1 elegido de



en la que n = 1 a 10, y



- 5
5. Una composición que comprende un compuesto de arilamida según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.
6. La composición según la reivindicación 5 que comprende además otro inhibidor de la angiogénesis.
7. Un compuesto de arilamida según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una composición según la reivindicación 5 ó 6 para el uso en el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado a una angiogénesis excesiva.
8. Un compuesto de arilamida o una composición para el uso según la reivindicación 7 en el que el compuesto de arilamida o composición se usa junto con otro compuesto para el uso en la terapia anti-inflamatoria, terapia ocular, terapia dérmica, radioterapia, cirugía de tumores, o quimioterapia dirigida contra un tumor sólido.
9. Un compuesto de arilamida o una composición para el uso según la reivindicación 8 en el que el otro compuesto para el uso en la quimioterapia se elige de aziridina, tiotepa, sulfonato de alquilo, nitrosourea, complejo de platino, agente alquilante clásico de NO, análogo de folato, análogo de purina, análogo de adenosina, análogo de pirimidina, urea sustituida, antibiótico antitumoral, agente de microtúbulos, y asparaginasa.
10. Un compuesto de arilamida o una composición para el uso según la reivindicación 7 en el que la enfermedad o trastorno asociado a una angiogénesis excesiva se elige de cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de colon, cáncer renal, cáncer de vejiga, cáncer pancreático, glioblastoma, neuroblastoma, ceguera, degeneración macular, retinopatía diabética, trasplante de córnea, degeneración miópica, artritis y psoriasis.
11. Un compuesto de arilamida según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una composición según la reivindicación 5 ó 6 para el uso según la reivindicación 7, en el que el compuesto de arilamida exhibe efectos antagonistas contra la heparina.
- 25

*Efecto anti-angiogénico de PMX en el modelo de CAM
inducida por FGF₂*

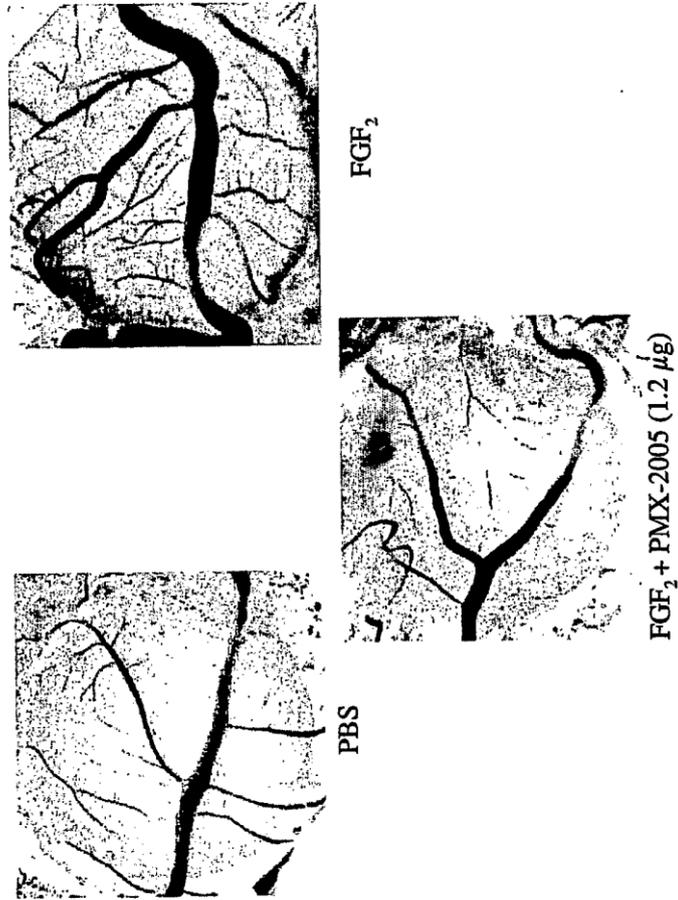


Fig. 1

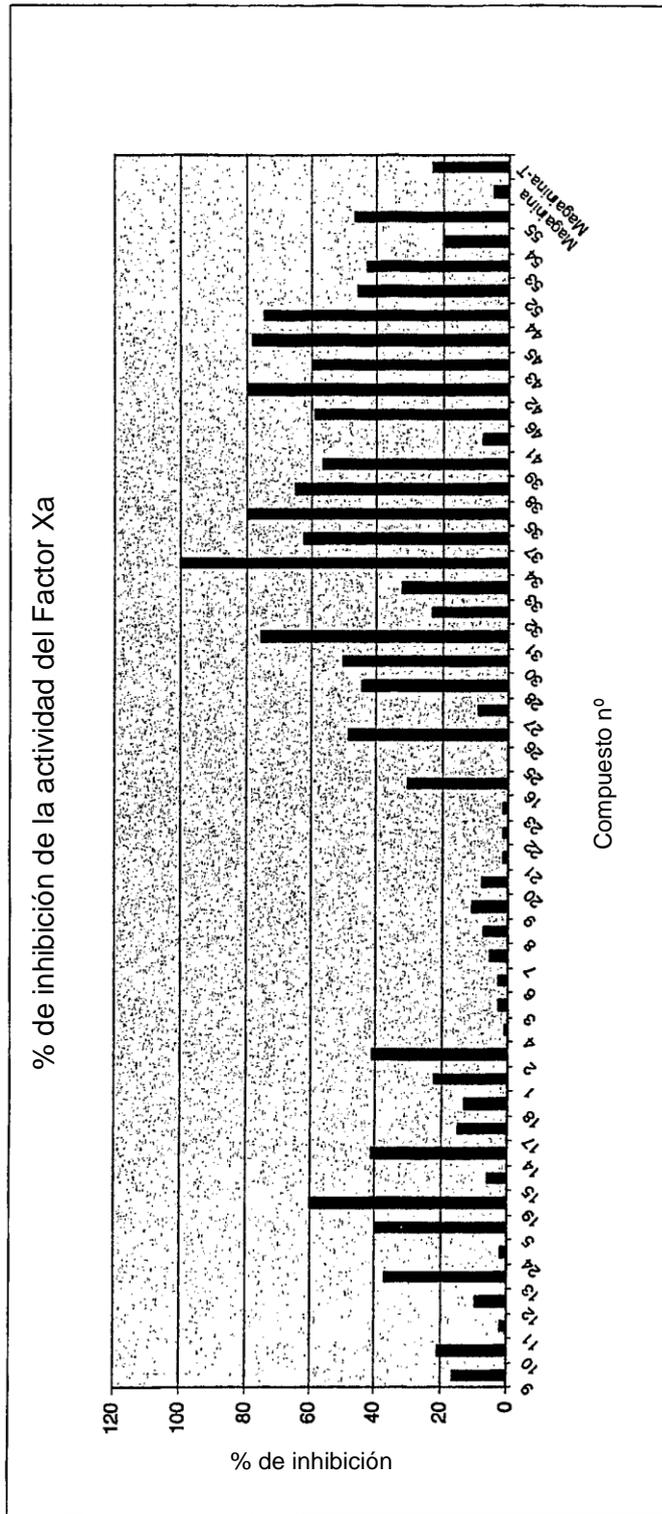


Fig. 2

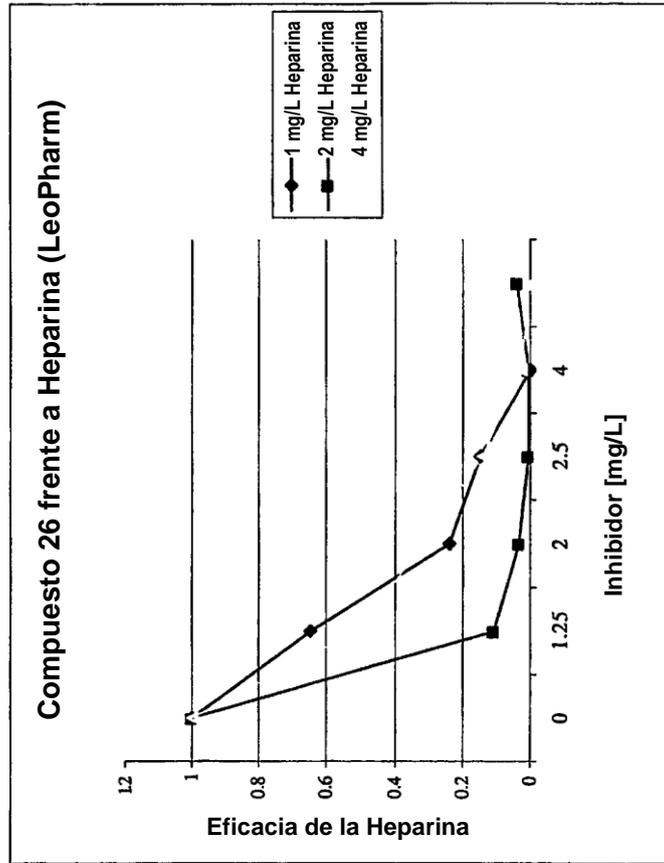


Fig. 3