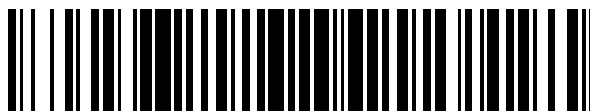


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 490 606**

51 Int. Cl.:

A61K 31/52 (2006.01)

A61K 31/522 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.10.2008** **E 08840556 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.05.2014** **EP 2227234**

54 Título: **Procedimiento para inducir proliferación de hepatocitos y usos del mismo**

30 Prioridad:

15.10.2007 US 960797 P

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

04.09.2014

73 Titular/es:

**CAN-FITE BIOPHARMA LTD. (100.0%)
10 BAREKET STREET P.O. BOX 7537
PETACH TIKVA 49170, IL**

72 Inventor/es:

**FISHMAN, PNINA y
COHEN, SHIRA**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 490 606 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

Procedimiento para inducir proliferación de hepatocitos y usos del mismo.

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere al campo de la terapéutica y, en particular, a procedimientos para producir diferenciación de hepatocitos y regeneración hepática.

Técnica anterior

La siguiente es una lista de la técnica que se considera pertinente para describir el estado de la técnica en el campo de la invención. El reconocimiento de estas referencias en el presente documento en ocasiones se realizará indicando su número entre paréntesis de la lista siguiente.

- 10 1. 1. Henrion J. Ischemia/reperfusion injury of the liver: pathophysiologic hypotheses and potential relevance to human hypoxic hepatitis. Acta Gastroenterol Belg. 63:336-347.
2. 2. Shirasugi N, Wakabayashi G, Shimazu M. Up-regulation of oxygen-derived free radicals by interleukin-1 in hepatic ischemia/reperfusion injury. Transplantation 64:1398-403.
- 15 3. 3. Xu Z, Jang Y, Mueller RA, Norfleet EA: IB-MECA and cardioprotection. Cardiovasc. Drug Rev. 24(3-4):227-238.
4. 4. Chen GJ, Harvey BK, Shen H, Chou J, Victor A, Wang Y: Activation of adenosine A3 receptors reduces ischemic brain injury in rodents. J. Neurosci. Res. 84(8):1848-1855.
5. 5. Fishman P, Bar-Yehuda S, Farbstein T, Barer F, Ohana G: Adenosine acts as a chemoprotective agent by stimulating G-CSF production: a role for A1 and A3 adenosine receptors. J. Cell. Physiol. 183(3):393-398.
- 20 6. 6. Fishman P, Bar-Yehuda S, Barer F, Madi L, Multani AF, Pathak S: The A3 adenosine receptor as a new target for cancer therapy and chemoprotection. Exp. Cell. Res. 269(2): 230-236.
7. 7. Bar-Yehuda S, Madi L, Barak D et al.: Agonists to the A3 adenosine receptor induce G-CSF production via NF-kappaB activation: a new class of myeloprotective agents. Exp. Hematol. 30(12):1390-1398.
- 25 8. 8. Fishman P, Bar-Yehuda S, and Wagman L. (1998). Adenosine and other low molecular weight factors released by muscle cells inhibit tumor cell growth: Possible explanation for the rarity of metastases in muscle. Cancer Res. 58:3181-3187.
9. 9. Fishman P, Bar-Yehuda S, Farbstein T, Barer F, and Ohana G. Adenosine acts as a chemoprotective agent by stimulating G-CSF production: A role for A1& A3 adenosine receptors. J. Cell. Physiol. 183:393-398.
- 30 10. 10. Fishman P, Bar-Yehuda S, Barer F, Madi L, Multani Asha S, Pathak S. The A3 adenosine receptor as a new target for cancer therapy and chemoprotection. Exp Cell Res. 269:230-236.
11. 11. Teoh N, dela Pena A, Farrell G. Hepatic ischemia preconditioning in mice is associated with activation of NFkB. p38 kinase and cell cycle entry. Hepatology 36:94-102.

Antecedentes de la invención

35 El hígado es el único órgano vital, aparte del cerebro, para el que no hay un medio de soporte farmacológico, mecánico o extra-corpóreo adicional para cuando falla el órgano, tales como los que se encuentran para los pulmones, riñones y corazón. El hígado es también único en cuanto a que es el único órgano de mamíferos que puede regenerar su masa parenquimatosa biológicamente funcional tras resección o lesión, en lugar de curarse con tejido cicatricial biológicamente no funcional.

40 Las resecciones hepáticas han sido cada vez más seguras durante los últimos 10 años debido a las mejoras en el diagnóstico preoperatorio, técnicas quirúrgicas y cuidados postoperatorios. La mortalidad postoperatoria se correlaciona directamente con la función hepática preoperatorio y el volumen de hígado resecado. La función del hígado restante se recupera rápidamente en pacientes con el parénquima hepático normal, ya que los hepatocitos proliferan para restaurar la pérdida de volumen. No obstante, en presencia de hepatopatía parenquimatosa, como en
45 pacientes con cirrosis hepática, esteatosis hepática grave o metástasis hepática colorrectal, debilitado por la quimioterapia neoadyuvante antes de la resección hepática, la proliferación hepatocelular está alterada, exponiendo a los pacientes a disfunción hepática y complicaciones asociadas que culminan en insuficiencia hepática posthepatectomía, que tiene una mortalidad elevada (60-90 %).

Se han identificado varias vías en la regeneración hepática, incluyendo una vía de citocinas que es en gran medida responsable de la entrada de los hepatocitos en el ciclo celular (transición de G0 a G1), un proceso que se

denomina cebado, y una vía del factor de crecimiento que es responsable de la progresión del ciclo celular (fase G1 a la fase S).

Además, la lesión por repercusión isquémica del hígado es otra manifestación conocida y clínicamente significativa de procedimientos quirúrgicos, tales como trasplante hepático y resección hepática parcial (1). Existen dos fases distintas de lesión hepática tras la lesión por repercusión de isquemia. La fase inicial (< 2 horas después de la repercusión) se caracteriza por tensión oxidativa, en la que la producción y liberación de especies de oxígeno reactivo (ROS) parece dar como resultado directamente lesión hepatocelular. La fase tardía (6-48 h después de la repercusión) es un trastorno inflamatorio mediado por los neutrófilos reclutados. Las interrelaciones entre productos de células de Kupffer activadas y neutrófilos, tales como el factor de necrosis tumoral (TNF- α), interleucina (IL)-1, óxido nítrico (NO) y leucotrienos, se han implicado en la patogenia de la lesión por reperusión de isquemia hepática (2). Los efectos biológicos de TNF- α se extienden desde inducir muerte celular a estimular la regeneración celular.

De hecho, en estudios recientes se ha mostrado que el preacondicionamiento isquémico se puede asociar con la entrada de los hepatocitos en el ciclo celular en un plazo de 2 horas de la posterior repercusión de la isquemia en un modelo murino de lesión IR hepática parcial (11),

La adenosina, a través de su unión a los receptores selectivos de membrana asociados a proteína G, designados A₁, A_{2A}, A_{2B} y A₃, se acumula extracelularmente tras la isquemia y se sabe que confiere citoprotección. En particular, se ha hallado que el A₃AR está implicado en la mediación de la protección cardiológica-neurológica y química (3-7).

El receptor de adenosina A₃, un receptor de superficie celular asociado con la proteína G_i, se ha propuesto como diana para combatir el cáncer y la inflamación. El receptor se expresa considerablemente en varios tipos de células tumorales, mientras que se mostró expresión baja en tejidos normales adyacentes. En estudios in vivo se ha mostrado que los agonistas de A₃AR inhiben el desarrollo de carcinomas de colon, próstata y páncreas, así como melanoma y hepatoma.

También se ha demostrado que los agonistas de A₃AR actúan como agentes antiinflamatorios mejorando el proceso de inflamación en diferentes modelos de autoinmunidad experimental, tales como artritis reumatoide, esclerosis múltiple y enfermedad de Crohn.

Además, se ha demostrado que los agonistas de A₃AR poseen un efecto diferencial sobre el crecimiento de células tumorales y normales. Aunque la activación de A₃AR inhibe el crecimiento de varias líneas de células tumorales, estimula la proliferación de células normales tales como células de la médula ósea (8-10).

En la actualidad no existe una intervención farmacológica demostrada que atenúe la lesión de células hepáticas o que aumente la regeneración tisular del hígado después de una lesión aguda o crónica de este órgano vital.

Sumario de la invención

La presente invención se basa en los hallazgos siguientes obtenidos de experimentos realizados en ratas con CI-IB-MECA, un agonista de A₃AR específico y selectivo:

- el tratamiento con CI-IB-MECA indujo la proliferación de los hepatocitos tras hepatectomía parcial;
- el tratamiento con CI-IB-MECA redujo los niveles séricos de las enzimas hepáticas alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) tras hepatectomía parcial;
- el tratamiento con CI-IB-MECA aumentó el número de hepatocitos que sufren mitosis tras hepatectomía parcial;
- el tratamiento con CI-IB-MECA aumentó el número de células positivas al antígeno nuclear de proliferación celular (PCNA) (correlacionándose la expresión con el grado de proliferación celular);
- el tratamiento con CI-IB-MECA aumentó el peso del hígado.

En base a los hallazgos anteriores, se ha concluido que los agonistas de A₃AR se pueden usar para inducir proliferación de hepatocitos y regeneración hepática.

Por tanto, de acuerdo con un primer aspecto, se proporciona un procedimiento de estimulación de la proliferación de los hepatocitos que comprende poner en contacto los hepatocitos con un agonista de A₃AR en una cantidad eficaz para estimular la proliferación de los hepatocitos.

También se proporciona en la presente divulgación un agonista de A₃AR para usar en un procedimiento para estimular la proliferación de hepatocitos.

En otra realización se proporciona en la presente divulgación un agonista de A₃AR para usar en un procedimiento para tratar a un paciente que tiene daño hepático debido a hepatectomía.

La presente divulgación también proporciona el uso de un agonista de A₃AR para la preparación de un medicamento para tratar un daño hepático en un paciente.

Además, se proporciona en la presente divulgación una composición farmacéutica para estimular la proliferación de hepatocitos, que comprende un agonista de A₃AR en una cantidad eficaz para estimular la proliferación de hepatocitos. También se proporciona en la presente divulgación una composición farmacéutica para tratar el daño hepático, que comprende un agonista de A₃AR en una cantidad eficaz para estimular la proliferación de hepatocitos.

En una realización, el agonista de A₃AR es 2-cloro-N⁶- (3-yodobencil)-adenosina- 5'-N-metil-uronamida (CI-IB-MECA), y en otra realización, el agonista de A₃AR es N⁶- (3-yodobencil)-adenosina- 5'-N-metil-uronamida (IB-MECA). No obstante, estos agonistas de A₃AR actualmente preferidos no son de ninguna manera excluyentes y también se pueden usar otros de estos agonistas de A₃AR, como se detalla más adelante adicionalmente.

En el contexto de la presente divulgación, diversas afecciones en las que el hígado o las células hepáticas están dañados después de una lesión hepática, hepatectomía, el daño hepático inducido por enfermedad o inducido por infección se puede tratar mediante el uso de un agonista de A₃AR.

Breve descripción de las figuras

Con el fin de entender la invención y de ver cómo se puede llevar a cabo en la práctica, a continuación se describirán realizaciones solo a modo de ejemplo no limitante, con referencia a las figuras adjuntas en las que:

Fig. La Fig. 1 es un gráfico de barras que muestra el efecto de CI-IB-MECA (**Tratados**) sobre la proliferación de hepatocitos en el hígado de una rata que sufre regeneración hepática tras hepatectomía parcial.

Las figuras 2A y 2B son gráficos de barras que muestran los niveles séricos de las enzimas hepáticas alanina aminotransferasa (ALT) (Fig. 2A) y aspartato aminotransferasa (AST) (Fig. 2B) en ratas tratadas con **CI-IB-MECA** en comparación con las ratas control, 2, 4 y 48 horas después de la hepatectomía parcial.

La **Fig. 3** es un gráfico de barras que muestra los niveles séricos de las enzimas hepáticas AST y ALT en ratas que sufrieron hepatectomía parcial y tratadas con **CI-IB-MECA** en comparación con las ratas sin tratar (**no tratadas**) o las ratas tratadas con vehículo (**vehículo**).

La **Fig. 4** es un gráfico de barras que muestra el índice mitótico de hepatocitos en ratas que sufrieron hepatectomía parcial y tratadas con **CI-IB-MECA**, en comparación con las ratas tratadas con vehículo (**vehículo**).

Las figuras 5A-5B son imágenes microscópicas tras tinción con el antígeno nuclear de células en proliferación (PCNA) de los hepatocitos 48 horas después de hepatectomía parcial tras tratamiento con vehículo únicamente (Fig. 5A, **vehículo**) o con **CI-IB-MECA** (Fig. 5B).

La **Fig. 6** es un gráfico de barras que muestra el peso del hígado (% de regeneración) 24 y 48 h después de hepatectomía parcial en ratas tratadas con **CI-IB-MECA** o tratadas con solo vehículo (**vehículo**).

Descripción detallada de la invención

La invención se describe en la siguiente descripción detallada con referencia a procedimientos para la estimulación de la proliferación de hepatocitos y la regeneración hepática. Cabe destacar que además de dichos procedimientos, también se abarca dentro de la presente invención o divulgación un agonista de A₃AR para usar en un procedimiento para estimular la proliferación de hepatocitos o la regeneración hepática; el uso de un agonista de A₃AR para la preparación de una composición farmacéutica para la administración a un sujeto que requiera estimulación de proliferación de hepatocitos y regeneración hepática; así como una composición farmacéutica para la estimulación de la proliferación de hepatocitos y regeneración hepática, que comprende una cantidad eficaz de un agonista de A₃AR y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Como se usa en la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones, las formas “uno”, “una” y “el/la” incluyen las referencias en singular y también plural a menos que el contenido indique claramente lo contrario. Por ejemplo, la expresión “un agonista de A₃AR” incluye uno o más agonistas.

Adicionalmente, como se usa en el presente documento, con el término “que comprende” se pretende decir que los procedimientos o la composición incluyen los elementos citados pero no excluyen los demás elementos. De un modo similar, “que consiste esencialmente en” se usa para definir procedimientos y composiciones que incluyen los elementos citados pero excluyen otros elementos que pueden tener un significado esencial sobre la estimulación de la proliferación de hepatocitos y regeneración hepática. Por ejemplo, una composición que consiste esencialmente en un agonista de A₃AR no incluirá o incluirá únicamente cantidades insignificantes (cantidades que tendrán un efecto insignificante sobre el efecto antiinflamatorio de la composición) de los demás ingredientes activos

que tienen actividad de proliferación de hepatocitos y regeneración hepática. Asimismo, una composición que consiste esencialmente en los agentes activos como se define en el presente documento no excluyen restos de contaminantes del procedimiento de aislamiento y purificación, vehículos, excipientes, conservantes farmacéuticamente activos, y similares. “**Que consiste en**” deberá significar que excluye más que los restos de elementos de otros elementos. Las realizaciones definidas por cada uno de estos términos de transición entran dentro del alcance de la presente invención.

Adicionalmente, todos los valores numéricos, por ejemplo concentración o dosis o intervalos de los mismos, son aproximaciones que varían (+) o (-) en hasta un 20 %, a veces en hasta un 10 % de los valores indicados. Debe entenderse, incluso aunque no siempre se indique explícitamente, que todas las designaciones numéricas deberán leerse como si estuvieran precedidas por el término “**aproximadamente**”. También debe entenderse, incluso aunque no siempre se indique explícitamente, que los reactivos descritos en el presente documento son meramente ilustrativos y que en la técnica se conocen equivalentes de ellos.

Como se detalla en la realización ilustrativa siguiente, la invención se basa en el hallazgo de que los agonistas de A₃AR se pueden usar para potenciar la regeneración hepática.

Por tanto, los agonistas de A₃AR se pueden usar en procedimientos *in vitro* e *in vivo* de estimulación de hepatocitos y estimulación de la proliferación de los hepatocitos. De acuerdo con los procedimientos divulgados en el presente documento, los hepatocitos se pueden poner en contacto con una cantidad de un agonista de A₃AR eficaz en la inducción de la proliferación de los hepatocitos.

Dichos procedimientos y usos incluyen, por una realización, la adición de agonistas de A₃AR a hepatocitos *in vitro*. De acuerdo con esto, se divulgan procedimientos y usos en el cultivo de hepatocitos *in vitro*, por ejemplo para el posterior trasplante, para generar tejido hepático artificial ex vivo, etc. Dichos procedimientos y usos implican la provisión de una cantidad biológicamente eficaz de un agonista de A₃AR a una muestra biológica *in vitro* o *ex vivo* que contiene una población de hepatocitos.

Procedimientos, agonistas de A₃AR, usos y composiciones farmacéuticas preferidos en el contexto de la presente divulgación son aquellos en los que los , agonistas de A₃AR son para inducción o proliferación de hepatocitos *in vivo*, dentro de la estructura de un tratamiento terapéutico destinado a inducir la proliferación de hepatocitos para contar daños hepáticos del tipo indicado anteriormente y más adelante también. Por tanto, en el presente documento se proporcionan procedimientos, agonistas de A₃AR y usos de inducción de crecimiento hepático, estimulación de la regeneración hepática y, generalmente, de tratamiento de sujetos que tienen varias formas de daño y enfermedad hepática.

Dentro de la estructura de la presente divulgación, la expresión “**daño hepático**” se usa para indicar cualquier tipo de traumatismo hepático (lesión), incluyendo traumatismo crónico y agudo, así como cambios patológicos presentes en la célula o tejido hepático. Las condiciones clínicas del daño hepático pueden incluir, sin limitaciones, degeneración de células vivas, vasculitis hepática, necrosis manchada o necrosis focal presente en el hígado, infiltración de células inflamatorias o proliferación de fibroblastos en el hígado y el área portal, o hepatomegalia, y hepatocirrosis, hematoma por daño hepático grave, y similares. El daño puede ser un resultado de una enfermedad (es decir, inducido por enfermedad) y/o daño hepático inducido por sustancias químicas hepatotóxicas por toxicidad. Se sabe que algunos fármacos pueden producir daño hepático y dar lugar a citolisis y necrosis hepática.

Dentro de la estructura de la presente divulgación, el agonista de A₃AR se administra a un sujeto en cantidades eficaces para estimular la proliferación de hepatocitos, inducir el crecimiento hepático, estimular la regeneración hepática y/o para tratar en general o prevenir daños, enfermedades y/o trastornos hepáticos en el paciente animal o humano. Las expresiones “**cantidades eficaces**” o “**cantidad eficaz para**”, como se usa en la presente memoria descriptiva, se refiere a cantidades eficaces para estimular la proliferación de hepatocitos, inducir el crecimiento hepático, estimular la regeneración hepática y/o tratar o prevenir daños hepáticos cuando se administran a un paciente animal o humano. La cantidad eficaz es, preferentemente, una cantidad que da una concentración del agonista de A₃AR en el que activa de forma selectiva el A₃AR sin activar ningún otro receptor de adenosina. Por ejemplo, en el caso de IB-MECA y CI-IB-MECA, dicha cantidad preferida es una cantidad que dará una concentración inferior a aproximadamente 200, 150, 125, o incluso inferior a aproximadamente 100 nM en el caso de IB-MECA e inferior a aproximadamente 400, 300, 250, o incluso inferior a aproximadamente 200 nM en el caso de CI-IB-MECA. La concentración resultante en una realización *in vitro* en la que se lleva a cabo la inducción de la proliferación de los hepatocitos y se puede calcular simplemente o determinar analíticamente. En el caso de una administración *in vivo* para alcanzar la proliferación de los hepatocitos *in vivo*, por ejemplo dentro de la estructura de tratamiento de una lesión hepática, la cantidad eficaz se puede determinar mediante estudios farmacocinéticos (PK) midiendo las concentraciones en sangre o plasma de los agonistas de A₃AR a intervalos de tiempo definidos (mediante extracción de sangre a dichos tiempos) tras la administración de los agonistas de A₃AR. En estudios PK, la concentración máxima del agonista de A₃AR en sangre o plasma será, preferentemente, una concentración que es inferior a la que se activará otro receptor de adenosina.

La inducción de la proliferación de hepatocitos en el contexto de la presente divulgación indica estimulación de la división de los hepatocitos y, a veces, la inhibición de la muerte de los hepatocitos.

Los agonistas de A₃AR se formulan, preferentemente, para administración sistémica, incluyendo administración transdérmica, intravenosa, intraperitoneal, subcutánea o intramuscular. La liberación más localizada en el hígado también se contempla, incluyendo todas las formas de administración intrahepática.

5 Una amplia gama de enfermedades, trastornos y afecciones asociadas con daño hepático se pueden tratar con agonistas de A₃AR como se divulga en el presente documento. Estas incluyen daños asociados con la exposición al alcohol, fármacos hepatotóxicos y combinaciones de los mismos. Ejemplos de agentes dañinos son anticonvulsivos, fenitoína, carbamazepina y fenobarbital, y drogas recreativas, tales como la conocida como "éxtasis" (3,4-metilendioxi metamfetamina).

10 Los efectos secundarios resultantes de otras terapias también se pueden tratar de acuerdo con la presente divulgación, incluyendo los daños hepáticos asociados con la exposición a agentes anti-tuberculosis y agentes quimioterapéuticos. El analgésico acetaminofén (es decir, Panadol, cuya nomenclatura química es 4-(N-acetilamino)fenol), cuando se administra a una dosis grande es un tipo de sustancia dañina para el hígado que puede inducir necrosis del hígado humano. Por ejemplo, la administración a largo plazo de antibióticos, tales como rifampicina, pirazinamida e isoniazida, y la administración prolongada de estrógenos y similares en el periodo de la menopausia, también puede producir necrosis hepatocitaria grave que conduce a daños hepáticos, tales como hepatitis aguda o crónica, ictericia y fibrosis hepática y similares.

15 El daño hepático asociado con una reducción en tejido hepático viable también se puede tratar, como el que se produce después de la resección de un carcinoma.

20 El daño hepático resultante o asociado a agentes infecciosos también se puede contrarrestar usando la presente invención. Esto incluye daños hepáticos asociados a infecciones bacterianas, parasitarias, fúngicas y víricas. Por ejemplo, el daño hepático es el resultado de infecciones fúngicas por *Aspergillus*, infecciones parasitarias por *Schistosoma* y diversas infecciones víricas, tales como adenovirus, retrovirus, virus adenoasociado (AAV), virus de la hepatitis A, virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C, virus de la hepatitis E, virus del herpes simple (VHS), virus de Epstein-Barr (EBV), e infecciones por paramixovirus, todos ellos se pueden tratar en el presente documento.

25 En el contexto de la presente divulgación, los agonistas de A₃AR también se pueden usar en el tratamiento, o incluso la prevención, de daños hepáticos asociados con una ingestión excesiva de acetaminofén (paracetamol). Esto se puede producir durante un periodo de tiempo prolongado, que conduce a daños hepáticos crónicos; o durante un periodo de tiempo corto o intermedio, que conduce a daños hepáticos agudos. Las últimas realizaciones incluyen sobredosis deliberadas y accidentales, incluidas tanto en adultos como en niños.

30 En la técnica se conocen varios agonistas de A₃AR. No obstante, la invención no se limita a agonistas de A₃AR conocidos. En general, el agonista de A₃AR es cualquier compuesto que es capaz de unirse específicamente al receptor de adenosina A₃ ("A₃AR"), de modo que se activa completa o parcialmente dicho receptor, para dar un efecto terapéutico (en este caso concreto, un efecto inductor sobre la proliferación de hepatocitos).

35 Por tanto, el agonista de A₃AR es un compuesto que ejerce su efecto principal a través de la unión y activación del A₃AR. De acuerdo con una realización, esto significaría que a la dosis que se está administrando se une esencialmente y activa únicamente el A₃R. En una realización preferida, el agonista de A₃AR tiene una afinidad de unión (K_i) al A₃AR humano inferior a 1000 nM, deseablemente inferior a 500 nM, de forma ventajosa inferior a 200 nM e incluso inferior a 100 nM, normalmente inferior a 50 nM, preferentemente inferior a 20 nM, más preferentemente inferior a 10 nM e idealmente inferior a 5 nM. Cuanto menor es la K_i menor es la dosis del agonista de A₃AR (que se puede usar) que será eficaz en la activación del A₃R y, por tanto, en el alcance de un efecto terapéutico.

40 A modo de ejemplo, la CI₅₀ y la K_i de IB-MECA y CI-IB-MECA, ambos agonistas específicos de A₃AR, se muestran en las Tablas 1 y 2 siguientes.

Tabla 1:

Afinidades de unión de IB-MECA a los 4 receptores de adenosina		
CI₅₀ del receptor	(nM)	K_i (nM)
A ₁	> 1.000	No determinado
A _{2A}	685	560
A _{2B}	47.600	42.300
A₃	0,68	0,47

Tabla 2:

Afinidades de unión de CI-IB-MECA a los 4 receptores de adenosina		
Receptor	CI ₅₀ (nM)	K _i (nM)
A ₁	5.390	3.140
A _{2A}	2.090	1.170
A _{2B}	Sin actividad	Sin actividad
A₃	0,717	0,661

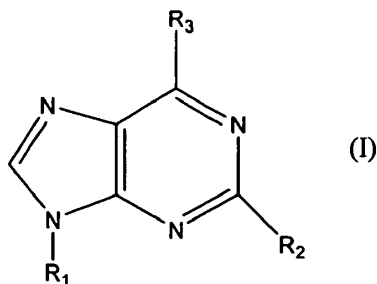
Como muestran claramente estas tablas, tanto IB-MECA y CI-IB-MECA, son agonistas altamente selectivos del A₃AR.

Cabe destacar que algunos agonistas de A₃AR también pueden interaccionar y activar otros receptores con afinidades menores (es decir, una K_i más alta). Un compuesto se considerará un agonista de A₃AR en el contexto de la presente divulgación (es decir, un compuesto que ejerce su efecto principal a través de la unión y activación de A₃AR) si su afinidad por A₃AR es de al menos 3 veces (es decir, su K_i por A₃AR es al menos 3 veces menor). Preferentemente, el agonista de A₃AR usado en el contexto de la presente divulgación es un agente que se une específica y selectivamente y activa el A₃AR. El agonista de A₃AR tiene, por tanto, una CI₅₀ o una K_i que es, preferentemente, al menos 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 250 o a veces al menos 500 veces inferior a la CI₅₀ o una K_i por cualquier otro receptor de adenosina.

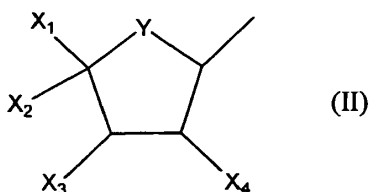
La afinidad de los agonistas de A₃AR por el A₃AR humano, así como su afinidad relativa por los otros receptores de adenosina humana se pueden determinar mediante una serie de ensayos, tales como un ensayo de unión. Ejemplos de ensayos de unión incluyen proporcionar membranas o células que tienen el receptor y medir la capacidad del agonista de A₃AR para desplazar un agonista radioactivo unido; usando células que muestran el respectivo receptor de adenosina humana y midiendo, en un ensayo funcional, la capacidad del agonista de A₃AR para activar o desactivar, como pueda ser el caso, acontecimientos de señalización corriente abajo tales como el efecto sobre la adenilato ciclasa medido a través de un incremento o disminución del nivel de AMPc etc. Claramente, si el nivel administración de un agonista de A₃AR aumenta de forma que su nivel en sangre alcance un nivel cercano al de la K_i de los otros receptores de adenosina, se puede producir la activación de estos receptores tras dicha administración, además de la activación del A₃R. Por tanto, un agonista de A₃AR se administra preferentemente a una dosis tal que el nivel en sangre que se alcanzará dará lugar a esencialmente únicamente activación de A₃R.

La característica de algunos agonistas de adenosina A₃AR y de procedimientos de su preparación se describen con detalle en, entre otros, los documentos US 5,688,774; US 5,773,423; US 5,573,772; US 5,443,836; US 6,048,865; WO 95/02604; WO 99/20284; WO 99/06053; WO 97/27173 y WO/2006/031505.

De acuerdo con una realización de la invención, el agonista de A₃AR es un derivado de purina que entra dentro del alcance de la fórmula general (I);

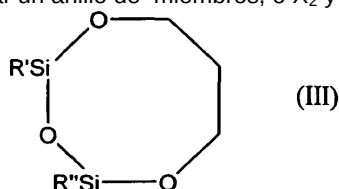


en la que R₁ es alquilo C₁-C₁₀, hidroxialquilo C₁-C₁₀, carboxialquilo C₁-C₁₀ o cianoalquilo C₁-C₁₀ o un grupo de la fórmula general (II) siguiente.



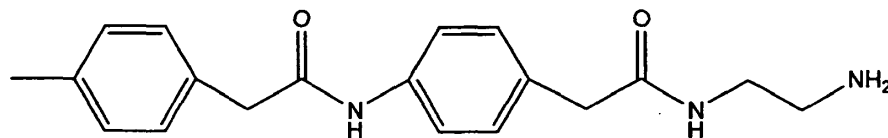
en la que:

- Y es un átomo de oxígeno, azufre o CH₂;
- X₁ es hidrógeno, alquilo C₁-C₁₀, R^aR^bNC(=O)- or HOR^c, en la que R^a y R^b pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan de hidrógeno, alquilo C₁-C₁₀, amino, haloalquilo C₁-C₁₀, aminoalquilo C₁-C₁₀, aminoalquilo C₁-C₁₀ BOC-y cicloalquilo C₃-C₁₀ o se unen para formar un anillo heterocíclico que contiene de dos a cinco átomos de carbono, y R^c se selecciona de alquilo C₁-C₁₀, amino, haloalquilo C₁-C₁₀, aminoalquilo C₁-C₁₀, aminoalquilo C₁-C₁₀ BOC y cicloalquilo C₃-C₁₀;
- X₂ es hidrógeno, hidroxilo, alquilamino C₁-C₁₀, alquilamido, C₁-C₁₀ o hidroxialquilo C₁-C₁;
- X₃ y X₄ son, cada uno de forma independiente, hidrógeno, hidroxilo, amino, amido, azido, halo, alquilo, alcoxi, carboxi, nitrilo, nitro, trifluoro, arilo, alcarilo, tio, tioéster, tioéter, -OCOPh, -OC(=S)OPh o X₃ e X₄ son oxígeno conectado >C=S para formar un anillo de miembros, o X₂ y X₃ X₂ forman el anillo de fórmula (III):



donde R' y R'' son de forma independiente alquilo C₁-C₁₀;

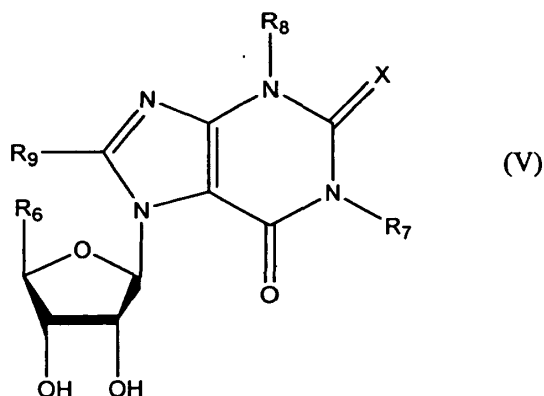
- R₂ se selecciona de hidrógeno, halo, alquiléter C₁-C₁₀, amino, hidrazido, alquilamino C₁-C₁₀, alcoxi C₁-C₁₀, tioalcoxi C₁-C₁₀, piridiltio, alquenilo C₂-C₁₀; alquinilo C₂-C₁₀, tio y alquiltio C₁-C₁₀; y
- R₃ es un grupo-NR₄R₅ siendo R₄ hidrógeno o un grupo seleccionado de alquilo, alquilo sustituido o aril-NH-C(Z)-, siendo Z O, S, o NR^a, y
 - donde R₄ es hidrógeno, siendo R₅ seleccionado de grupos R- y S-1-feniletilo, bencilo, feniletilo o anilida, estando cada grupo sin sustituir o sustituido en una o más posiciones con un sustituyente seleccionado de alquilo C₁-C₁₀, amino, halo, haloalquilo C₁-C₁₀, nitro, hidroxilo, acetoamido, alcoxi C₁-C₁₀ y ácido sulfónico o una sal del mismo; o R₅ es benzodioxanometilo, fururilo, L-propilalanil-aminobencilo, α-alanilmino- bencilo, T-BOC-α-alanilaminobencilo, fenilamino, carbamoilo, fenoxi o cicloalquilo C₁-C₁; o R₅ es un grupo de la siguiente fórmula (IV):



(IV)

- o, cuando R₄ es alquilo, alquilo sustituido o aril-NH-C(Z)-, R₅ se selecciona del grupo que consiste en heteroaril-NR^a-C(Z)-, heteroaril-C(Z)-, alcaril-NR^a-C(Z)-, alcaril-C(Z)-, aril-NR-C(Z)- y aril-C(Z)- sustituido o no sustituido;

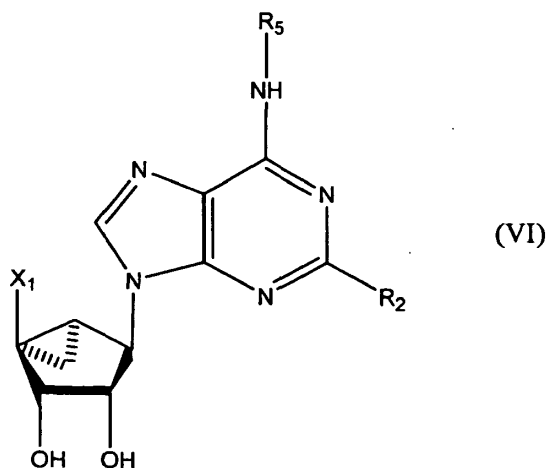
o el agonista de A₃AR es un derivado de xanina-7-ribósido de la fórmula general (V) siguiente:



en la que:

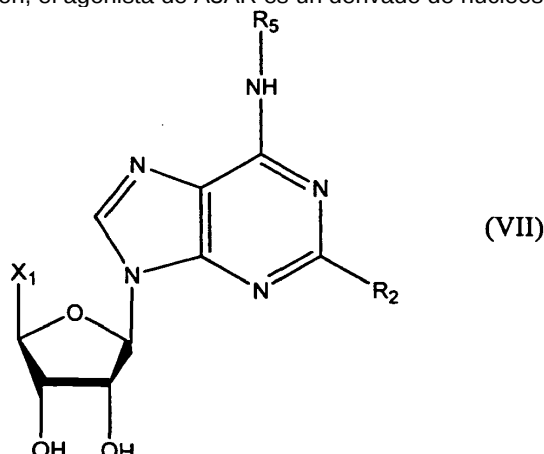
- X es O o S;
- R₆ es R^aR^bNC(=O)- o HOR^c-, en la que
- 5 ○ R^a y R^b pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan de hidrógeno, alquilo C₁-C₁₀, amino, haloalquilo C₁-C₁₀, aminoalquilo C₁-C₁₀ y cicloalquilo C₃-C₁₀, o están unidos para formar un anillo heterocíclico que contiene de dos a cinco átomos de carbono; y
- R^c se selecciona de alquilo C₁-C₁₀, amino, haloalquilo C₁-C₁₀, aminoalquilo C₁-C₁₀, aminoalquilo C₁-C₁₀ BOC y cicloalquilo C₃-C₁₀;
- 10 ○ R₇ y R₈ pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan de alquilo C₁-C₁₀, cicloalquilo C₁-C₁₀, R- o S-1-feniletilo, un grupo bencilo o anilida sin sustituir y un feniléter del grupo bencilo sustituido en una o más posiciones con un sustituyente seleccionado de alquilo C₁-C₁₀, amino, halo, haloalquilo C₁-C₁₀, nitro, hidroxilo, acetamido, alcoxi C₁-C₁₀ y ácido sulfónico;
- R₉ se selecciona del grupo que consiste en halo, bencilo, fenilo, cicloalquilo C₃-C₁₀ y alcoxi C₁-C₁₀;
- 15 o una sal adecuada del compuesto definido anteriormente.

En una realización, Y puede formar un puente condensado con cualquiera de los sustituyentes X₁ o X₂. Esta realización se divulga en el documento WO 2006/031505, la totalidad de cuyo contenido se incorpora por referencia. En una realización adicional, dichos compuestos pueden tener la fórmula general siguiente:



- 20 en la que X₁, R₂ y R₅ son como se ha definido con anterioridad.

De acuerdo con otra realización, el agonista de A₃AR es un derivado de nucleósido de la fórmula general (VII):



en la que X₁, R₂ y R₅ son como se ha definido con anterioridad.

Un grupo no limitante de agonistas de A₃AR son los derivados de N⁶-benciladenosin-5'-uronamida. Algunos derivados de N⁶-benciladenosin-5'-uronamida preferidos son N⁶-2-(4-aminofenil)etiladenosina (APNEA), N⁶-(4-amino-3-yodobencil) adenosina-5'-(N-metiluronamida) (AB-MECA), 1-desoxi-1-[[{3-yodofenil} metil]amino]-9H-purin-9-il]-N-metil-â-D-ribofuranuronamida (IB-MECA) y 2-cloro-N⁶-(3-yodobencil)adenosin- 5'-N-metiluronamida (Cl-IB-MECA).

De acuerdo con otra realización, el agonista de A₃AR es N⁶-bencil- adenosina-5'-alquiluronamida-N¹-óxido o N⁶-benciladenosina-5'-N-dialil-uronamida-N¹-óxido.

Se apreciará que la cantidad eficaz del agonista de A₃AR depende de varios factores, incluyendo la afinidad del agente activo por su correspondiente receptor, su perfil de distribución dentro del cuerpo, varios parámetros farmacológicos tales como la semivida en el cuerpo, efectos secundarios indeseados, en su caso, sobre factores tales como peso, edad, sexo, antecedentes farmacológicos, medicamentos concomitantes y otros parámetros del sujeto que se va a tratar etc. La cantidad eficaz normalmente se analiza en estudios clínicos que tienen el objetivo de hallar el intervalo de dosis eficaz, la dosis máxima tolerada y la dosis óptima. El modo de realizar dichos estudios clínicos lo conoce bien una persona versada en la técnica del desarrollo clínico.

Una cantidad también se puede determinar a veces basándose en las cantidades mostradas eficaces en animales. Se sabe bien que una cantidad de X mg/Kg administrada a ratas se puede convertir en una cantidad equivalente en otra especie (principalmente seres humanos) mediante el uso de uno de posibles procedimientos de conversión bien conocidos en la técnica. Ejemplos de ecuaciones de conversión son los siguientes:

Conversión I:

Especie	Peso corporal (kg)	Área de superficie corporal (m ²)	Factor Km
Ratón	0,2	0,0066	3,0
Rata	0,15	0,025	5,9
Niño humano	20,0	0,80	25
Adulto	70,0	1,60	37

Conversión de la dosis dependiente del área de superficie corporal: Proporción de rata (150 g) a ser humano (70 Kg) es 1/7 la dosis para rata. Esto significa que en el caso de 0,001-0,4 mg/kg en ratas equivale a aproximadamente 0,14-56 microgramos/kg en seres humanos; suponiendo un peso medio de 70 kg, esto se traduciría en una dosificación absoluta de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 4 mg.

Conversión II:

Los siguientes factores de conversión: Ratón = 3, Rata = 67. Multiplicar el factor de conversión por el peso del animal para pasar de mg/Kg a mg/m² para la dosis humana equivalente.

Especie	Peso (kg)	BSA (m ²)
Humano	70,00	1,710
Ratón	0,02	0,007
Rata	0,15	0,025
Perro	8,00	0,448

- 5 De acuerdo con esta ecuación, las cantidades equivalentes a 0,001 – 0,4 mg/kg en ratas para seres humanos son 0,16-64 µg/Kg; es decir, una dosis absoluta para un ser humano que pesa aproximadamente 70 kg de aproximadamente 0,011 a aproximadamente 4,4 mg, similar al intervalo indicado en la conversión I.

Conversión III:

- 10 Otra alternativa para la conversión es fijando la dosis para dar el mismo nivel plasmático o AUC que el alcanzado tras la administración a un animal.

- Una cantidad eficaz de un agente activo también se puede determinar basándose en los estudios PK humanos. Por ejemplo, estudios en seres humanos como se describe en la solicitud de patente de EE.UU, publicación nº 20050101560 y Fishman et al. [Fishman P. et al., Tolerability, pharmacokinetics, and concentration-dependent hemodynamic effects of oral CF101, an A3 adenosine receptor agonist, in healthy young men Int J Clin Pharmacol Ther. 42:534-542, 2004, siendo (CF101 una calidad clínica, fabricado según las guías de la BPFc, IB-MECA)] mostró que el nivel de IB-MECA administrado por vía oral se degrada en el plasma humano desde su concentración máxima con una semivida de aproximadamente 8-10 horas, en comparación con una semivida de únicamente 1,5 horas en ratones, en caso de múltiple administración diaria, a veces se debe corregir las dosis por efectos acumulados (una dosis posterior se administra antes de disminuir el nivel de una previa y, por tanto, existe una acumulación del nivel plasmático por encima del que se produce en una única dosis. En base a dichos ensayos humanos, la administración dos veces al día parece ser un régimen de administración preferido. No obstante esto no descarta otros regímenes de administración. Los estudios realizados con seres humanos con CI-IB-MECA mostraron que el nivel de CI-IB-MECA administrado por vía oral desciende en el plasma humano con una semivida de aproximadamente 12-14 horas con respecto a su concentración máxima. En base a estos datos humanos, el régimen de administración en sujetos humanos puede ser, preferentemente, una o dos veces al día, aunque no se pueden excluir otros regímenes.

- En el contexto de la presente invención, la composición farmacéutica normalmente comprende una combinación de un agonista de A3AR con un vehículo farmacéuticamente aceptable, así como otros aditivos. El vehículo puede tener, a veces, el efecto de mejorar la liberación o penetración del ingrediente activo en el tejido diana para mejorar la estabilidad del fármaco para ralentizar las velocidades de aclaración, para impartir propiedades de liberación lenta, para reducir los efectos secundarios indeseados etc. El vehículo también puede ser una sustancia que estabiliza la formulación (p. ej., un conservante) para proporcionar a la formulación un sabor comestible etc. Ejemplos de vehículos, estabilizantes y adyuvantes se describen en, por ejemplo, E.W. Martin, REMINGTON'S PHARMACEUTICAL SCIENCES, MacK Pub Co (June, 1990).

- La invención se ha descrito de un modo ilustrativo y debe entenderse que la terminología que se ha usado debe estar en la naturaleza de las palabras de descripción y no de limitación. Obviamente, numerosas modificaciones y variaciones de la presente invención son posibles en vista de las enseñanzas anteriores. Por tanto, debe entenderse que dentro del ámbito de las reivindicaciones adjuntas, la invención puede ponerse en práctica de una manera distinta a la que se describe específicamente en el presente documento a continuación.

Descripción detallada de realizaciones ilustrativas no limitantes

Materiales y procedimientos

Animales

5 Ratas Wistar macho (275-300 g) en ayunas 12 horas antes del procedimiento. Se anestesió a las ratas con ketamina (45 mg/kg) y xilazina (5 mg/kg). Se realizó una laparotomía mediante una incisión subcostal bilateral. El pedículo portal principal del hígado total se pinzó durante un periodo de 10 minutos, durante los cuales se realizó una hepatectomía del 70 %. Tras 10 minutos de isquemia (durante la hepatectomía) se restableció el flujo de sangre quitando la pinza.

Materiales

10 El agonista de A_3AR CI-IB-MECA se sintetizó para Can-Fite BioPharma de Albany Molecular Research Inc, Albany, NY, EE.UU. Se administró CI-IB-MECA a una concentración de 100 µg/kg comenzando al final de la isquemia, tres veces al día durante 48 horas. Las ratas control no recibieron CI-IB-MECA.

Procedimientos

15 Las ratas sufrieron una laparotomía y el pedículo portal principal del hígado total se pinzó durante un periodo de 10 minutos, durante los cuales se realizó una hepatectomía del 70 %. Tras 10 minutos de isquemia se restableció el flujo de sangre quitando la pinza. Se administró CI-IB-MECA (100 µg/Kg) por vía oral tres veces al día, comenzando en la perfusión.

Resultados

Proliferación de hepatocitos

20 Con referencia a la Fig. 1, se puede ver que CL-IB-MECA reguló por aumento la proliferación de los hepatocitos del hígado regenerado tras hepatectomía parcial, lo que demuestra un 45,1 % de nivel de regeneración en el grupo tratado en comparación con el 30 % en el grupo control.

Niveles séricos de las enzimas hepáticas ALT y AST

25 Un incremento de los niveles séricos de ALT y AST indica daño hepático. Como se puede ver en las FIGS. 2A y 2B, los niveles de ALT y AST disminuyeron significativamente en el grupo tratado con CL-IB-MECA en comparación con el grupo control en cada uno de los tres puntos de tiempo medidos (2, 4 y 48 horas).

30 En un ensayo adicional, el efecto de CI-IB-MECA se comparó con las ratas tratadas con el vehículo únicamente o con las ratas que no recibieron tratamiento y los resultados se presentan en la **Fig. 3**. Como se ha mostrado, el tratamiento con CI-IB-MECA condujo a la reducción de los niveles séricos de enzimas hepáticas, de modo que demuestra que el tratamiento con CI-IB-MECA puede proteger al hígado frente a los daños inducidos por el procedimiento de isquemia/reperfusión.

Índice mitótico

35 Cuarenta y ocho horas después de la hepatectomía parcial se extrajeron los hígados, se fijaron con 10 % de formalina tamponada y se incluyeron en parafina y secciones de 5 µm de grosor se sometieron a tinción con hematoxilina y eosina. Los campos de alta potencia (HPF, 400 aumentos) se sometieron a detección selectiva y las células que sufrieron mitosis se contaron en cada campo. La Fig. 4 presenta una media de 50 HPF contados. Los resultados se presentan como un % del control. Como se ha demostrado, el tratamiento con CI-IB-MECA aumentó significativamente el índice mitótico ($P=0,035$) en comparación con el grupo tratado con vehículo.

Expresión del antígeno nuclear de células en proliferación

40 El antígeno nuclear de células en proliferación (PCNA) es una proteína nuclear que se expresa en la fase G_1 tardía y a lo largo de la fase S del ciclo celular. La cantidad de expresión de PCNA se correlaciona con el grado de proliferación celular. Cuarenta y ocho horas después de la hepatectomía parcial se extrajeron los hígados, se fijaron con 10 % de formalina tamponada y se incluyeron en parafina y secciones de 5 µm de grosor se sometieron a tinción con PCNA. La cantidad de PCNA tras el tratamiento con vehículo solo con CI-IB-MECA se muestra en las Figs. **5A** y **5B**, respectivamente. Como se ha mostrado, el tratamiento con CI-IB-MECA aumentó significativamente el número de hepatocitos positivos a PCNA (**Fig. 5B**).

45

Regeneración hepática

Los hígados se extrajeron 24 y 48 horas después de los hepatocitos parciales y el peso.

El crecimiento de los lóbulos hepáticos residuales se evaluó usando la ecuación siguiente:

$$\text{Tasa de regeneración hepática (\%)} = \frac{C-(A-B)}{A} \times 100$$

5

en la que

A es el peso total estimado del hígado antes de la hepatectomía (3,4 % del peso total de la rata)

B es el peso del hígado resecado durante la hepatectomía, y

C es el peso del hígado regenerado al final del estudio.

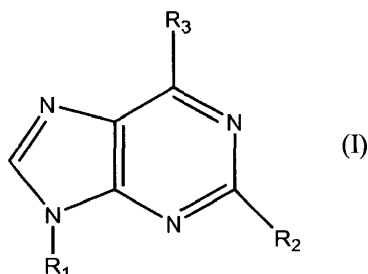
10 Como se muestra, el tratamiento de CI-IB-MECA condujo a un incremento del peso hepático y, en otras palabras, aceleró la velocidad de regeneración del hígado.

Por tanto, se concluyó que el agonista de A₃AR CI-IB-MECA es eficaz en la regeneración del hígado resecado y prevención del daño hepático tras hepatectomía.

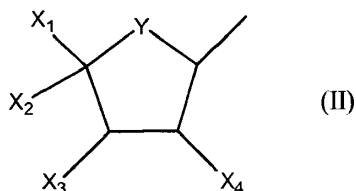
REIVINDICACIONES

1. Un uso de un agonista del receptor de la adenosina A_3 (agonista de A_3AR) para estimular la proliferación de hepatocitos *in vitro*.

5 2. El uso de la reivindicación 1, en el que el agonista de A_3AR es un derivado de purina que entra dentro del alcance de la fórmula general (I);



en la que R_1 es alquilo C_1-C_{10} , hidroxialquilo C_1-C_{10} , carboxialquilo C_1-C_{10} o cianoalquilo C_1-C_{10} o un grupo de la fórmula general (II) siguiente.



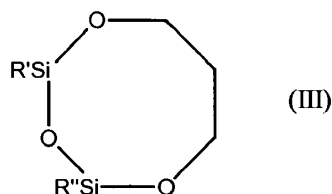
10 en la que:

- Y es un átomo de oxígeno, un átomo de azufre o CH_2 ;

X_1 es hidrógeno, alquilo C_1-C_{10} , $R^aR^bNC(=O)-$ o HOR^c , en donde R^a y R^b pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan de hidrógeno, alquilo C_1-C_{10} , amino, haloalquilo C_1-C_{10} , aminoalquilo C_1-C_{10} , aminoalquilo C_1-C_{10} BOC y cicloalquilo C_3-C_{10} o se unen para formar un anillo heterocíclico que contiene de dos a cinco átomos de carbono, y R^c se selecciona de alquilo C_1-C_{10} , amino, haloalquilo C_1-C_{10} , aminoalquilo C_1-C_{10} , aminoalquilo C_1-C_{10} BOC y cicloalquilo C_3-C_{10} ;

- X_2 es hidrógeno, hidroxilo, alquilamino C_1-C_{10} , alquilamido C_1-C_{10} o hidroxialquilo C_1-C_{10} ;

- X_3 y X_4 son, cada uno de forma independiente, hidrógeno, hidroxilo, amino, amido, azido, halo, alquilo, alcoxi, carboxi, nitrilo, nitro, trifluoro, arilo, alcarilo, tio, tioéster, tioéter, $-OCOPh$, $-OC(=S)OPh$ o X_3 e X_4 son oxígeno conectado $>C=S$ para formar un anillo de 5 miembros, o X_2 y X_3 forman el anillo de fórmula (III):

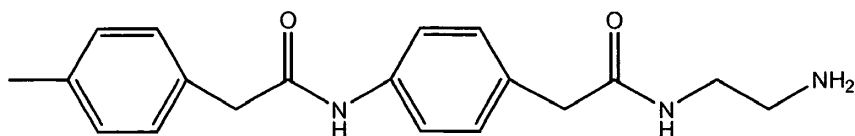


donde R' y R'' son de forma independiente alquilo C_1-C_{10} ;

- R_2 se selecciona de hidrógeno, halo, alquiléter C_1-C_{10} , amino, hidrazido, alquilamino C_1-C_{10} , alcoxi C_1-C_{10} , tioalcoxi C_1-C_{10} , piridiltio, alquenilo C_2-C_{10} ; alquinilo C_2-C_{10} , tio y alquiltio C_1-C_{10} ; y

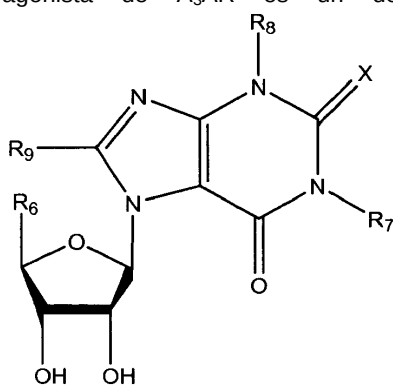
25 - R_3 es un grupo- NR_4R_5 siendo R_4 hidrógeno o un grupo seleccionado de alquilo, alquilo sustituido o aril- $NH-C(Z)-$, siendo Z O, S o NR^a , y

- donde R_4 es hidrógeno, siendo R_5 seleccionado de grupos R- y S-1-feniletilo, bencilo, feniletilo o anilida, estando cada uno de dichos grupos sin sustituir o sustituido en una o más posiciones con un sustituyente seleccionado de alquilo C_1-C_{10} , amino, halo, haloalquilo C_1-C_{10} , nitro, hidroxilo, acetoamido, alcoxi C_1-C_{10} y ácido sulfónico o una sal del mismo; o R_5 es benzodioxanometilo, fururilo, L-propilalanil-aminobencilo, β -alanilmino-bencilo, T-BOC- β -alanilaminobencilo, fenilamino, carbamoilo, fenoxi o cicloalquilo C_1-C_{10} ; o R_5 es un grupo de la siguiente fórmula (IV):



(IV)

o, cuando R_4 es alquilo, alquilo sustituido o aril-NH-C(Z)-, R_5 se selecciona del grupo que consiste en heteroaril-NR^a-C(Z)-, heteroaril-C(Z)-, alcaril-NR^a-C(Z)-, alcaril-C(Z)-, aril-NR-C(Z)- y aril-C(Z)- sustituidos o no sustituidos; o el agonista de A₃AR es un derivado de xantina-7-ribósido de la fórmula general (V) siguiente:



(V)

en la que:

- X es O o S;

- R_6 es R^aR^bNC(=O)- o HOR^c-, en la que

- R^a y R^b pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan de hidrógeno, alquilo C_1-C_{10} , amino, haloalquilo C_1-C_{10} , aminoalquilo C_1-C_{10} y cicloalquilo C_3-C_{10} , o están unidos para formar un anillo heterocíclico que contiene de dos a cinco átomos de carbono; y

- R^c se selecciona de alquilo C_1-C_{10} , amino, haloalquilo C_1-C_{10} , aminoalquilo C_1-C_{10} , aminoalquilo C_1-C_{10} BOC y cicloalquilo C_3-C_{10} ;

- R₇ y R₈ pueden ser iguales o diferentes y se seleccionan de alquilo C_1-C_{10} , cicloalquilo C_1-C_{10} , R- o S-1-feniletilo, un grupo bencilo o anilida sin sustituir y un feniléter del grupo bencilo sustituido en una o más posiciones con un sustituyente seleccionado de alquilo C_1-C_{10} , amino, halo, haloalquilo C_1-C_{10} , nitro, hidroxilo, acetamido, alcoxi C_1-C_{10} y ácido sulfónico;

- R₉ se selecciona del grupo que consiste en halo, bencilo, fenilo, cicloalquilo C_3-C_{10} y alcoxi C_1-C_{10} ;

o una sal adecuada del compuesto definido anteriormente.

3. El uso de las reivindicaciones 1 o 2, en el que el agonista de A₃AR es un derivado de N⁶-benciladenosin-5'-uronamida seleccionado del grupo que consiste en N⁶-2-(4-aminofenil)etiladenosina (APNEA), N⁶-(4-amino-3-yodobencil) adenosina-5'-(N-metiluronamida) (AB-MECA), 1-desoxi-1-{6- [(3-yodofenil) metil]amino}-9H-purin-9-il}-N-metil- β -D-ribofuranuronamida (IB-MECA) y 2-cloro-N⁶-(3-yodobencil)adenosin-5'-N-metiluronamida (CI-IB-MECA).

4. El uso de la reivindicación 3, en el que el agonista de A₃AR es IB-MECA o CI-IB-MECA.

5. El uso de la reivindicación 4, en el que el agonista de A₃AR es CI-IB-MECA.

6. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 1-5 para inducir proliferación de hepatocitos en el hígado tras un daño hepático o un daño inducido por enfermedad.

7. El uso de la reivindicación 6, en el que el daño hepático o el daño inducido por enfermedad son un resultado de hepatectomía, cirrosis del hígado, neoplasias malignas hepáticas, exposición a alcohol, fármacos hepatotóxicos y combinaciones de los mismos, agentes infecciosos, los efectos secundarios de la terapia génica, exposición a agentes anti-tuberculosis y agentes quimioterapéuticos o sobredosis de acetaminofén (APAP).
- 5 8. Un agonista de A₃AR para usar en un procedimiento *in vivo* para estimular la proliferación de hepatocitos en un sujeto.
9. El agonista de A₃AR para usar de acuerdo con la reivindicación 8, en el que el sujeto tiene daño hepático o enfermedad hepática inducida con fármacos.
- 10 10. El agonista de A₃AR para uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que el daño hepático o la enfermedad hepática inducida con fármacos son un resultado de hepatectomía, cirrosis del hígado, neoplasias malignas hepáticas, exposición a alcohol, fármacos hepatotóxicos y combinaciones de los mismos, agentes infecciosos, los efectos secundarios de la terapia génica, exposición a agentes anti-tuberculosis y agentes quimioterapéuticos o sobredosis de acetaminofén (APAP).
- 15 11. Un agonista de A₃AR para uso en un procedimiento para tratar el daño hepático en un paciente que tiene daños hepáticos debido a hepatectomía.
12. El agonista de A₃AR para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8-11, que es como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 2-5.

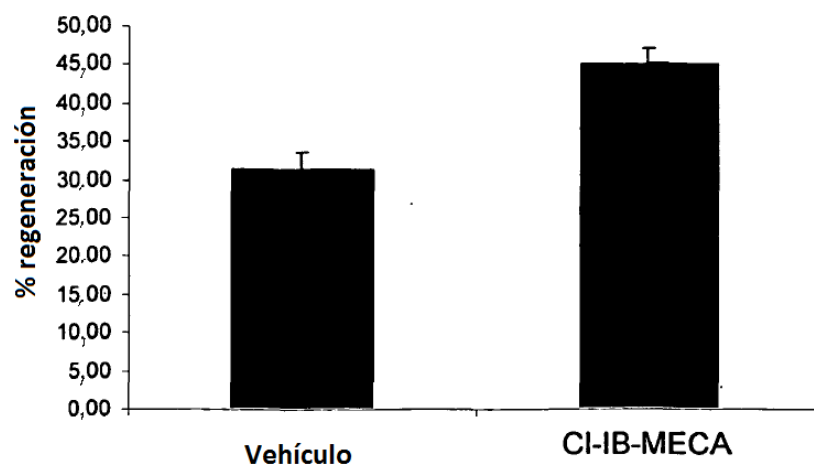


Figura 1

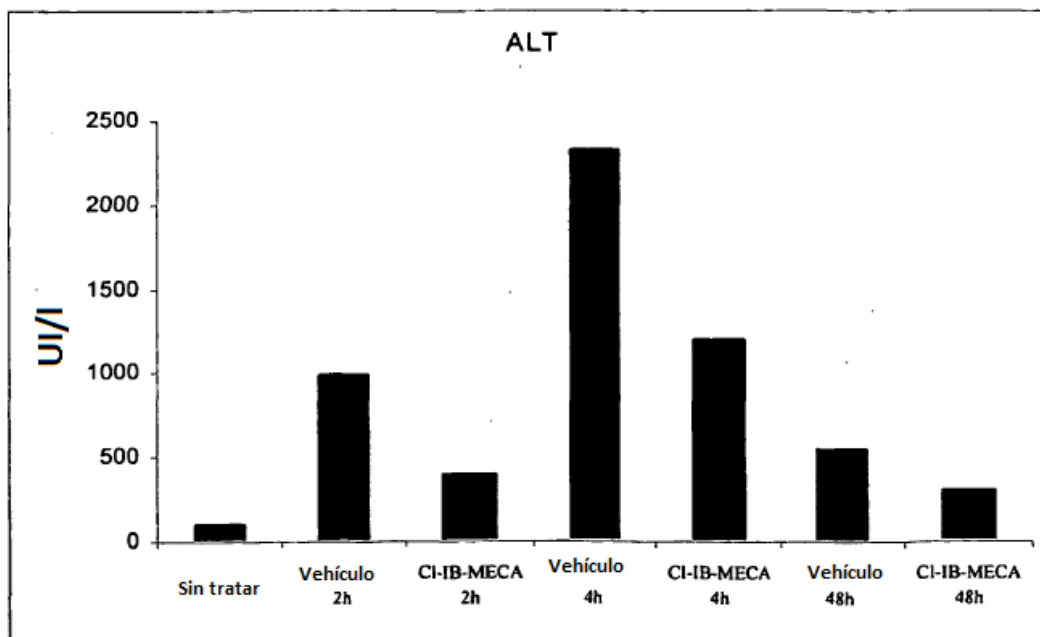


Figura 2A

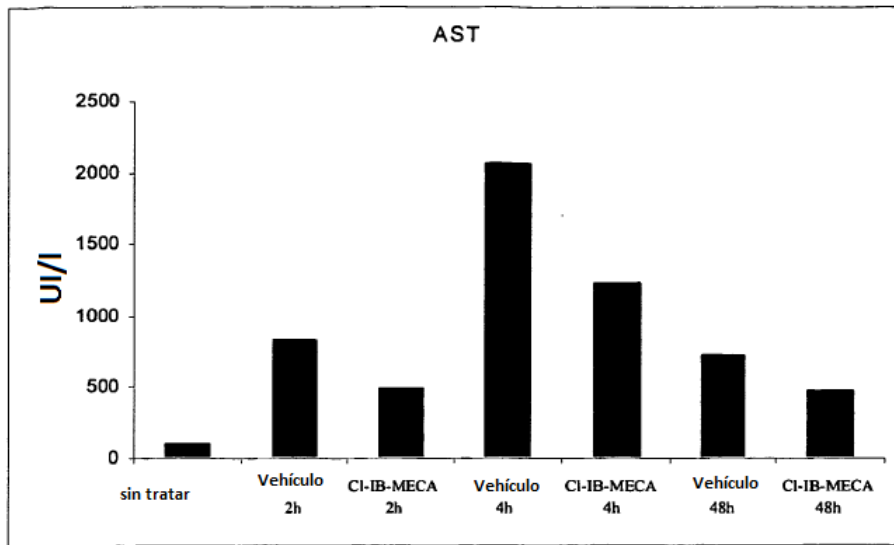


Figura 2B

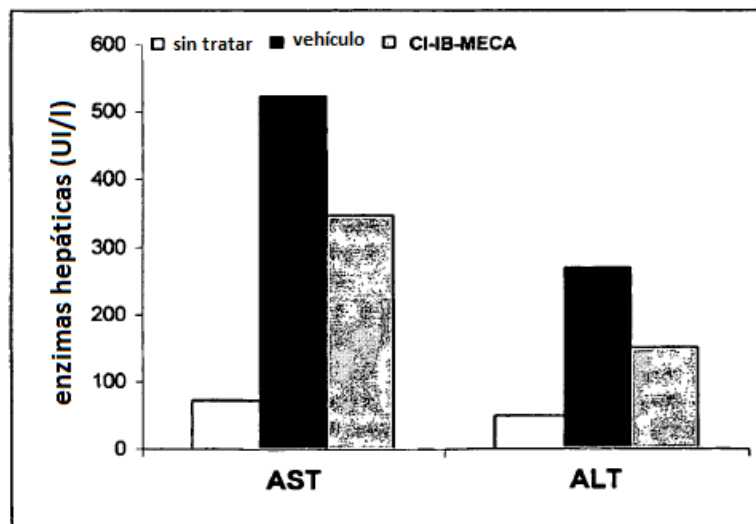


Figura 3

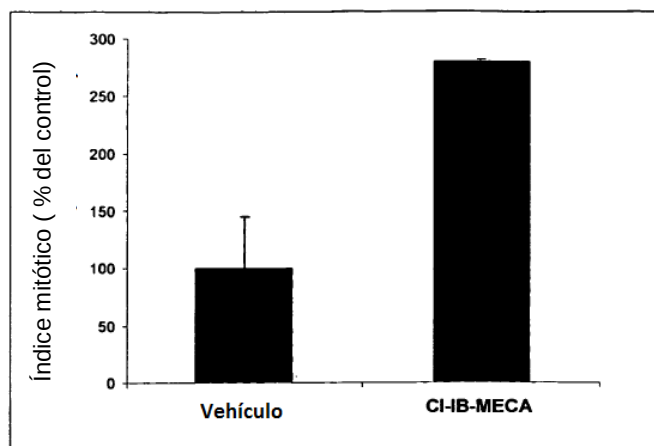


Figura 4

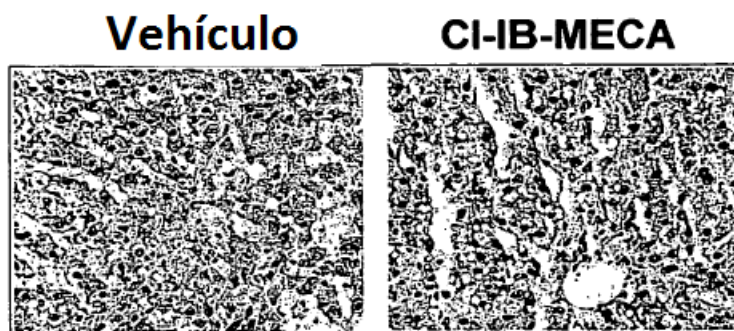


Figura 5A

Figura 5B

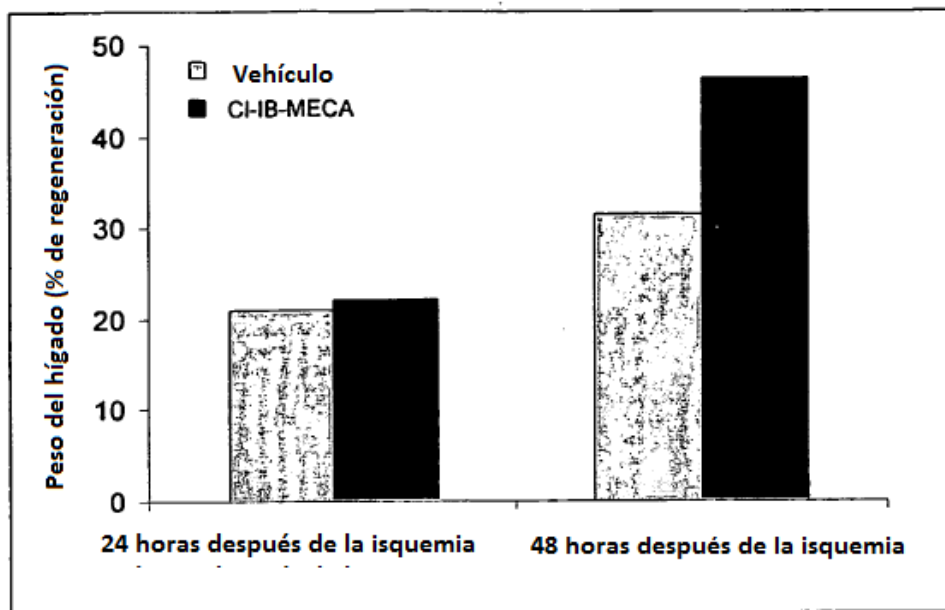


Figura 6