

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 537 216**

51 Int. Cl.:

A61K 31/66 (2006.01)

A61K 31/675 (2006.01)

A61P 9/04 (2006.01)

A61P 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.09.2010 E 10814383 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2015 EP 2473172**

54 Título: **Composiciones de bisfosfonato y métodos para tratar la insuficiencia cardíaca**

30 Prioridad:

01.09.2009 US 238797 P

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

03.06.2015

73 Titular/es:

**DUKE UNIVERSITY (100.0%)
Office of Licensing and Ventures 2812 Erwin
Road, Suite 306
Durham, NC 27705, US**

72 Inventor/es:

**LYLES, KENNETH, W.;
COLON-EMERIC, CATHLEEN, S.;
O'CONNOR, CHRISTOPHER, M.;
STACK, RICHARD, S. y
STACK-D'NIAYE, COLLEEN**

74 Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

ES 2 537 216 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones de bisfosfonato y métodos para tratar la insuficiencia cardíaca

5 Antecedentes de la invención

Campo de la invención

10 La presente invención se relaciona con reducir o inhibir la disfunción cardíaca debido a la insuficiencia cardíaca mediante la administración de un compuesto de bisfosfonato.

Técnica relacionada con el Campo

15 La prevalencia de insuficiencia cardíaca ("HF") ha crecido a proporciones epidémicas según la población envejece y según los cardiólogos se han vuelto más exitosos al reducir la mortalidad de la cardiopatía isquémica, el preludeo más común a HF. Específicamente, más de 5.7 millones de estadounidenses sufren de insuficiencia cardíaca, y un estimado de 550,000 nuevos casos se diagnostican cada año (Lloyd-Jones y otros, 2009). A pesar de las opciones actuales de tratamiento, los pacientes con estadio II o III de insuficiencia cardíaca se enfrentan a una tasa de mortalidad de 2 años del 25%, mala calidad de vida, y repetidas hospitalizaciones para manejar descompensaciones agudas. La Asociación Americana del Corazón estima el costo directo e indirecto de la insuficiencia cardíaca en los Estados Unidos que sea \$ 37.2 billones de dólares sólo en 2009 (Lloyd-Jones y otros, 2009).

25 La HF puede ser causada por muchas formas de cardiopatía. Las causas más comunes de insuficiencia cardíaca son: estrechamiento de las arterias que suministran sangre al músculo del corazón (cardiopatía coronaria); infarto previo (infarto de miocardio) que resulta en el tejido de la cicatriz suficientemente grande como para interferir con la función normal del corazón; presión arterial alta; enfermedad de la válvula del corazón debido a la fiebre reumática antigua o una anomalía presente en el nacimiento; enfermedad primaria del propio músculo del corazón (cardiomiopatía); e infección de las válvulas del corazón y/o propio músculo (endocarditis y/o miocarditis). Cada uno de estos procesos de la enfermedad puede conducir a insuficiencia cardíaca reduciendo la fuerza de la contracción del músculo cardíaco, limitando la capacidad de las cavidades de bombeo del corazón a llenarse con sangre debido a problemas mecánicos o deterioro de la relajación diastólica, o llenando las cavidades del corazón con demasiada sangre.

35 La disfunción cardíaca debido a cardiotoxicidad además pueden deberse a cardiopatía inducida por la radiación (RIHD) y agentes quimioterapéuticos que se deben a las intervenciones terapéuticas para tratar malignidades. La cardiotoxicidad deja al corazón incapaz de bombear eficientemente la sangre por todo el cuerpo. Los síntomas de este efecto incluyen dificultad para respirar, fatiga y anemia. Estas señales indican que el corazón está teniendo dificultades para mantener su función esencial. Se ha encontrado además que la radioterapia (RT) puede causar lesiones a todos los componentes del corazón, que incluyen el daño de los pequeños vasos que suministran la sangre al corazón. Esto puede causar cicatrización en el músculo del corazón. Además, las arterias coronarias son más propensas a la coagulación después de que se trata con radiación. La radiación puede dañar el revestimiento endotelial de los vasos haciéndolos formar coágulos más fácilmente. Como se indicó anteriormente, el agente quimioterapéutico usado en el tratamiento del cáncer, tales como antraciclinas, agentes alquilantes, antimetabolitos, antimicrotúbulos y etc., pueden causar además cardiotoxicidad.

45 La fisiopatología dominante asociada con HF es la disfunción sistólica, un deterioro de la contractilidad cardíaca (con una consiguiente reducción de la cantidad de sangre expulsada con cada latido del corazón). La disfunción sistólica con dilatación compensatoria de las cavidades ventriculares resulta en la forma más común de insuficiencia cardíaca, "miocardiopatía dilatada." El contrapunto a la disfunción sistólica es la disfunción diastólica, un deterioro de la capacidad para llenar los ventrículos con sangre, que puede resultar además en insuficiencia cardíaca aun con la función ventricular izquierda preservada. La insuficiencia cardíaca se asocia en última instancia con la función inadecuada de las células musculares cardíacas que implican una disminución en la capacidad de contraerse y relajarse de manera efectiva.

55 Muchas de las mismas afecciones subyacentes pueden dar lugar a disfunción sistólica y/o diastólica, tales como aterosclerosis, hipertensión, infección viral, disfunción valvular y trastornos genéticos. Los pacientes con estas afecciones típicamente se presentan con los mismos síntomas clásicos: dificultad respirar, edema y fatiga abrumadora. En aproximadamente la mitad de los pacientes con miocardiopatía dilatada, la causa de su disfunción cardíaca es la cardiopatía isquémica debido a aterosclerosis coronaria. Estos pacientes han tenido ya sea un único infarto de miocardio o múltiples infartos de miocardio y la consiguiente cicatrización y remodelación resulta en el desarrollo de un corazón dilatado e hipocóncil.

60 Un hallazgo más reciente es que las citoquinas inflamatorias se elevan en los pacientes con insuficiencia cardíaca.

Claramente, existe una relación directa entre los niveles elevados de TNF- α e IL-6 y el grado de anormalidades hemodinámicas. Del mismo modo, mientras mayor el nivel de TNF- α más severos los síntomas de insuficiencia cardíaca. Curiosamente, se ha encontrado que el TNF- α no se expresa por el corazón humano normal, pero se expresa en cantidades abundantes por el corazón humano que falla. Además, el TNF- α puede inducir la expresión de otras citocinas inflamatorias.

DE-A-19738005 describe bisfosfonatos de nuevo tipo para el tratamiento de enfermedades causadas por retrovirus, insuficiencia cardíaca, cáncer y/o fibrosis quística. Se muestra que el uso de bisfosfonatos nuevos provoca un aumento en la conducción eléctrica en las células cardíacas pero no se proporciona ninguna orientación o sugerencia para aumentar la fracción de eyección en un corazón dañado. WO-A-05/002545 describe el uso de bisfosfonatos capturados en micropartículas con un tamaño de aproximadamente 0.05 a 1.0 micras, tales como liposomas, en incidentes coronarios agudos, tales como, angina inestable, ruptura de la placa o infarto agudo de miocardio. Sin embargo se usa una gran cantidad de los bisfosfonatos, siendo esa 3 mg/kg, que se aumenta en gran medida cuando se compara con la dosificación usada con la presente invención y no existe ninguna enseñanza o incentivo para reducir la cantidad.

Numerosos compuestos se conocen por ser útiles para la prevención y tratamiento de la insuficiencia cardíaca, que incluyen antagonistas alfa-adrenérgicos, antagonistas de la angiotensina II, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), antagonistas beta-adrenérgicos, antihipertensivos, bloqueadores de canal de calcio, diuréticos, vasodilatadores de apertura de canal de potasio, inhibidores de la renina, y antagonistas de serotonina. Sin embargo, en vista de la alta prevalencia de la insuficiencia cardíaca en la población general y el mal pronóstico de estos pacientes, continúa existiendo una gran necesidad de agentes que explotan nuevos mecanismos de acción y pueden tener mejores resultados en términos de alivio de los síntomas, seguridad y mortalidad del paciente, tanto a corto plazo como a largo plazo. Los nuevos agentes pueden proporcionar un medio para lograr mejores resultados clínicos para los que tienen o están en riesgo de insuficiencia cardíaca.

Resumen de la invención

La presente invención proporciona un bisfosfonato o una sal farmacéuticamente eficaz de este para el uso en el tratamiento o la prevención de la insuficiencia cardíaca en un sujeto, en donde el bisfosfonato es para la administración por vía intravenosa o por vía oral a una dosificación de aproximadamente 40 μ g/kg a aproximadamente 125 μ g/kg, en donde el sujeto experimenta fracción de eyección cardíaca mejorada.

El bisfosfonato o una sal farmacéuticamente eficaz de este es adecuado para el uso en un método para tratar la hipertrofia, hipertensión, insuficiencia cardíaca, cardiopatía isquémica, lesión por reperfusión isquemia e insuficiencia cardíaca aguda de etiología inflamatoria, es decir, miocarditis y rechazo cardíaco agudo asociado con trasplante cardíaco en mamíferos que incluye administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un bisfosfonato o una sal farmacéuticamente eficaz de este.

El bisfosfonato o sal farmacéuticamente eficaz de este se puede usar en las composiciones farmacéuticas que comprenden un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. El compuesto de bisfosfonato puede incluir, pero sin limitarse a ácido zoledrónico, risedronato, alendronato, cimadronato, clodronato, tiludronato, etidronato, ibandronato, piridronato o pamidronato y análogos funcionales de estos. Preferentemente el compuesto es ácido zoledrónico o ibandronato.

Un compuesto de bisfosfonato o una sal farmacéuticamente eficaz de este de acuerdo con la invención se puede usar en un método para administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad eficaz del compuesto y posterior al diagnóstico de la insuficiencia cardíaca, la aparición de una lesión vascular, posterior a una operación quirúrgica vascular o en conjunto con las intervenciones terapéuticas para tratar malignidades que incluyen la terapia de radiación y uso de los compuestos de antraciclina.

El bisfosfonato y preferentemente, el ácido zoledrónico se pueden usar para tratar la disfunción sistólica y/o diastólica, en donde el ácido zoledrónico se administra en una cantidad terapéuticamente eficaz para aumentar la capacidad de las células del músculo cardíaco para contraerse y relajarse aumentando de ese modo el llenado y vaciado tanto del ventrículo derecho como izquierdo.

El compuesto de bisfosfonato o sal farmacéuticamente eficaz de este se puede administrar al menos anualmente, ya sea después del diagnóstico de insuficiencia cardíaca o después de la aparición de una lesión vascular u operación quirúrgica. La cantidad del compuesto de bisfosfonato administrada es una cantidad eficaz para tratar o prevenir la insuficiencia cardíaca del paciente. Con mayor preferencia la cantidad eficaz es de aproximadamente 50 μ g/kg a 100 μ g/kg.

El tratamiento eficaz se puede exhibir por un aumento de la fracción de eyección, aumento en la función diastólica

- 5 y/o sistólica, mejora en la hemodinámica, reducción en los niveles de citoquinas inflamatorias y niveles de neurohormonas, reducción en los marcadores de la inflamación, reducción en los marcadores de la lesión, inhibición de la agregación plaquetaria, mejora en la función endotelial, reducciones en las arritmias, y mejora en la variabilidad de la frecuencia cardíaca, mejora en la dispersión QRS y prolongación QTC, y mejora de la capacidad de respuesta inmune, todo lo que se puede probar por expertos artesanos con los regímenes de prueba conocidos y disponibles.
- 10 Un aspecto adicional de la presente invención se relaciona con el uso de un compuesto de bisfosfonato solo o junto con otros agentes terapéuticos cardíacos que incluyen, pero sin limitarse a nitratos, bloqueadores beta-adrenérgicos, antagonistas de los canales de calcio, agentes antihipertensivos, agentes reductores del colesterol, diuréticos, inhibidores ACE, antagonistas no peptídicos de la angiotensina II, antagonistas IIb/IIIa y aspirina en la fabricación de un medicamento para la prevención de eventos cardiovasculares, por ejemplo accidente cerebro vascular, insuficiencia cardíaca, muerte cardiovascular, infarto de miocardio, empeoramiento de la angina de pecho, paro cardíaco, o necesidad de procedimientos de revascularización.
- 15 Otro aspecto de la presente invención se relaciona con un bisfosfonato o una sal farmacéuticamente eficaz para la administración en una cantidad eficaz para tratar o prevenir la insuficiencia cardíaca después de la administración de Vitamina D (colecalfiferol o egrocalciferol) en el intervalo de dosificación de aproximadamente 50,000-125,000 IU en una única o múltiples dosificaciones.
- 20 El compuesto de bisfosfonato o sal farmacéuticamente eficaz de este se pueden suministrar de manera local o específica usando técnicas intervencionistas. Esto podría lograrse mediante inyección coronaria directa en múltiples contextos clínicos. En un método preferido, el bisfosfonato puede ser directamente infundido en una arteria coronaria de un paciente sometido a una intervención de emergencia para reperfusión durante el infarto agudo de miocardio (AMI). En este escenario, la infusión intracoronaria directa del compuesto de bisfosfonato puede tener un efecto
- 25 significativo en la inflamación asociada con la reperfusión y curación o lesión por reperfusión, en el tamaño del infarto, en el desarrollo de secuelas tales como insuficiencia cardíaca, o sobre los resultados clínicos. En un método alternativo, el compuesto de bisfosfonato se puede inyectar en todas las arterias coronarias (por ejemplo a través de las arterias coronarias principales izquierda y derecha) después del trasplante de corazón. Se prevé que el momento, dosificación e intervalos de dosificación se pueden determinar basado en la enfermedad que el
- 30 bisfosfonato pretende tratar o prevenir, así como el contexto clínico en el que se administra el bisfosfonato.
- Además, el uso de métodos locales o específicos de entrega del fármaco, el compuesto de bisfosfonato se puede acoplar a un portador tal como una nanopartícula, microesfera, u otro tipo de partícula de tamaño adecuado, forma y otras características para efectuar la entrega local, específico de la terapia. Dispositivos asociados o vehículos para
- 35 la entrega se diseñan preferentemente para la colocación intravascular o intracardiaca. Estos métodos pueden incluir aquellos en los que los dispositivos o vehículos para la entrega se diseñan para promover la entrega del compuesto de bisfosfonato con el paso del tiempo. Estos métodos pueden incluir pero sin limitarse a prótesis intravasculares o intracardiaca que se acoplan a o construyen enteramente de polímero bioabsorbible. Alternativamente, el bisfosfonato se puede eluir a partir de otro material que puede ser duradero o bioabsorbible.
- 40 Alternativamente, el compuesto de bisfosfonato se puede liberar con el paso del tiempo a través de una membrana u otra barrera de un parche que reside en el corazón o la vasculatura. Además, el compuesto de bisfosfonato se puede suministrar por elución de la pavimentación vascular o hidrogel, que incluyen por vía de implementación de un globo recubierto con hidrogel u otro liberador de fármaco.
- 45 En un método alternativo adicional, el compuesto de bisfosfonato se puede combinar con un dispositivo que se usa actualmente para tratar trastornos cardiovasculares. Por ejemplo, el compuesto de bisfosfonato se puede eluir, en conjunto con un fármaco anti-restenosis o solo, a partir de una endoprótesis colocada que eluye el fármaco en el tratamiento del infarto agudo de miocardio (AMI).
- 50 Todavía en un método alternativo adicional, un bisfosfonato, preferentemente ácido zoledrónico, se puede administrar en conjunto con las intervenciones terapéuticas para tratar malignidades, en donde tales intervenciones incluyen la terapia de radiación y/o el uso de un agente antineoplásico usado en la quimioterapia.
- 55 Un estuche para el tratamiento o prevención de la insuficiencia cardíaca y los efectos secundarios negativos de estos puede comprender al menos una dosis de un bisfosfonato en una cantidad terapéuticamente eficaz para tratar o prevenir los síntomas de la insuficiencia cardíaca. El estuche puede incluir opcionalmente una dosificación diaria suficiente de vitamina D para el consumo de 7 días a un mes.
- 60 Otros aspectos, objetos, características y ventajas de la presente invención serán evidentes para un experto en la técnica a partir de la siguiente descripción detallada que ilustra las modalidades preferidas de la invención.

Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra la compilación de los resultados de la prueba de cerdos durante el periodo de prueba.

5 La Figura 2 es un gráfico que muestra los valores promedios de la prueba de cerdos administrados con el ácido zoledrónico o placebo.

La Figura 3 es un gráfico que muestra el valor absoluto del aumento de la fracción de eyección.

Descripción detallada de la invención

10 La presente invención se dirige a un bisfosfonato o una sal farmacéuticamente eficaz de este como se definió anteriormente para el uso en el tratamiento o prevención de la insuficiencia cardíaca, que incluyen tratar una o más de las afecciones subyacentes de insuficiencia cardíaca, que incluyen, sin limitarse a, contractilidad cardíaca disminuida, cumplimiento sistólico o diastólico anormal, volumen sistólico reducido, congestión pulmonar y gasto cardíaco disminuido, y mientras que minimiza o atenúa los efectos perjudiciales asociados comúnmente con compuestos usados anteriormente.

15 Los bisfosfonatos, una clase de compuestos que son análogos de pirofosfato, se han usado durante treinta (30) años para tratar trastornos esqueléticos causados por la resorción ósea osteoclástica aumentada (Rosen, 2005). El primer compuesto aprobado para el uso en el tratamiento de la enfermedad de hueso de Paget fue etidronato. Esto fue seguido por más potentes bisfosfonatos que contienen nitrógeno: alendronato, risedronato e ibandronato; que se han convertido en la primera línea de terapia para la osteoporosis postmenopáusica. Sin embargo, hasta hace poco, estos agentes tuvieron que ser administrados por vía oral, que requieren dosificación semanalmente a mensual. Ahora dos bisfosfonatos: ibandronato y ácido zoledrónico son eficaces en el tratamiento de la osteoporosis cuando se administran por vía intravenosa, ya sea trimestral cada año (ibandronato), o anualmente (ácido zoledrónico).

20 Los bifosfonatos son los fármacos de elección actual para la osteoporosis, porque reducen las tasas de fractura, así como la discapacidad acompañante (Rosen, 2005). Aunque dos tipos de fracturas osteoporóticas (vertebrales y cadera) se asocian con una mayor mortalidad, hasta hace poco ningún ensayo clínico ha demostrado una reducción de la mortalidad usando los bisfosfonatos para tratar esta enfermedad. Recientemente, se llevó a cabo un estudio clínico en donde los pacientes que estaban dentro de los 90 días de la reparación quirúrgica de una fractura de cadera se aleatorizaron para recibir ya sea ácido zoledrónico o placebo al inicio del estudio y una vez al año después de eso, siendo la variable de respuesta primaria la tasa de nuevas fracturas clínicas (Colón-Emeric y otros, 2004). El ensayo tuvo un resultado positivo con una reducción del 35% en el riesgo de todas las fracturas clínicas (Lyles y otros, 2007). Además, se observó una reducción del 28% en la mortalidad en los pacientes que recibieron ácido zoledrónico en comparación con los sujetos placebo.

25 Otro estudio de interés describió el uso de ratones modificados genéticamente que exhiben los efectos de tener Síndrome de Progeria Hutchinson-Gilford (HGPS). Las personas diagnosticadas con esta enfermedad por lo general tienen cuerpos pequeños, frágiles, como los de las personas de edad avanzada. Más tarde, la afección causa piel arrugada, aterosclerosis y problemas cardiovasculares. Los ratones se trataron con pravastatina y ácido zoledrónico en un intento de retardar el envejecimiento prematuro, retraso del crecimiento, enfermedad vascular, pérdida de cabello, y osteoporosis. (Varela 2008) Se reportaron estas terapias en conjunto, para aumentar la esperanza de vida de 101-179 días.

30 Al ver los resultados de estos estudios, se teorizó por los presentes inventores que el bisfosfonato puede ser responsable de la reducción de la mortalidad. Específicamente, esta hipótesis se basó en la evidencia epidemiológica que une la enfermedad cardiovascular y la osteoporosis, y los patrones superpuestos de citoquinas inflamatorias elevadas asociadas con la discapacidad y la muerte tanto en pacientes con fractura de cadera como los pacientes con insuficiencia cardíaca. Los resultados de las pruebas, como se discute en la presente descripción, proporcionan evidencia de que la administración del bifosfonato puede repercutir positivamente en la insuficiencia cardíaca de un mamífero.

Definiciones

35 El término "bisfosfonato", como se usa en la presente descripción, significa cualquier compuesto que es un análogo de pirofosfato endógeno de manera que el oxígeno central se sustituye por carbono. Los bisfosfonatos incluyen aminobisfosfonatos. Los bisfosfonatos incluyen, pero sin limitarse a los siguientes compuestos: ácido zoledrónico, risedronato, alendronato, cimadronato, clodronato, tiludronato, etidronato, ibandronato, piridronato o pamidronato y análogos funcionales de estos.

40 El término "ácido zoledrónico", como se usa en la presente descripción, significa incluir el propio ácido libre, es decir, ácido 1-hidroxi-2-(imidazol-1-il) etano-1,1-difosfónico, así como cualesquiera sales farmacéuticamente aceptables y los hidratos de estos y solvatos de estos formados a partir de otros disolventes usados para su cristalización. ácido

1-hidroxi-2-(imidazol-1-il) etano-1,1-difosfónico y sus sales farmacológicamente aceptables, hidratos y solvatos son bien conocidos de la literatura. Se pueden preparar por procedimientos conocidos en la técnica, tal como se describe, por ejemplo, en U.S. Pat. No. 4,939,130. Ver además U.S. Pat. Nos. 4,777,163 y 4,687,767. Los contenidos de las tres últimas patentes se incorporan como referencia en su totalidad.

5 El término "insuficiencia cardíaca", como se usa en la presente descripción, significa la función cardíaca deteriorada que hace que el corazón no pueda mantener el gasto normal de la sangre en reposo o con ejercicio, o mantener un gasto cardíaco normal en el ajuste de la presión de llenado cardíaco normal. Una fracción de eyección ventricular izquierda de aproximadamente 40% o menos es indicativa de insuficiencia cardíaca (en forma de comparación, una fracción de eyección de aproximadamente 55% a 60% por ciento es normal). Los pacientes con insuficiencia cardíaca muestran signos y síntomas clínicos bien conocidos, tales como taquipnea, derrames pleurales, fatiga en reposo o con el ejercicio, disfunción contráctil y edema. La severidad relativa y progresión de la enfermedad se evalúan por métodos bien conocidos, tales como examen físico, ecocardiografía, cintigrafía, monitorización hemodinámica invasiva, angiografía por resonancia magnética, y pruebas de esfuerzo acopladas con estudios de absorción de oxígeno.

10 El término "cardiopatía isquémica," como se usa en la presente descripción, significa cualquier trastorno que resulta de un desequilibrio entre la necesidad de oxígeno del miocardio y la suficiencia del suministro de oxígeno. La mayoría de los casos de cardiopatía isquémica resulta del estrechamiento de las arterias coronarias, como ocurre en la aterosclerosis u otros trastornos vasculares.

15 El término "enfermedad cardiovascular aterosclerótica," como se usa en la presente descripción, significa una enfermedad cardiovascular que se asocia con o secundaria a una afección aterosclerótica, por ejemplo, un estado de enfermedad de las arterias caracterizado por una acumulación de células de músculo liso de la intima, acumulación de macrófagos y linfocitos T, formación de grandes cantidades de matriz de tejido conectivo, y acumulación de lípido, principalmente en forma de ésteres de colesterol o colesterol dentro de las células y el tejido conectivo circundante, y acumulación de debris necrótico.

20 El término "infarto de miocardio", como se usa en la presente descripción, significa un proceso por el que la enfermedad isquémica resulta en una región del miocardio que se sustituye por tejido de la cicatriz.

25 El término "compuesto cardiotoxico," como se usa en la presente descripción, significa agentes quimioterapéuticos que incluyen, pero sin limitarse a antraciclinas, tales como, Doxorubicina, Daunorubicina, Epirubicina, Idarubicina, y Mitoxantrona; agentes alquilantes, tales como, Vusulfan, Cisplatino, Ciclofosfamida, Ifosfamida y Mitomicina; Antimetabolitos, tales como, Capecitabina, Citarabina y Fluorouracilo; Antimicrotúbulos, tales como, Paclitazell y alcaloides de la Vinca; agentes Biológicos, tales como, Alemtazumab, Bevacizumab, Cetuximab, Rituximab, Trastuzumab, IL-2 e interferón- α ; y diversos, tales como, Imatinib, trióxido de Arsénico y Etopósido.

30 El término "hipertensión", como se usa en la presente descripción, significa la presión arterial que se considera por el profesional médico (por ejemplo, un médico o una enfermera) que es más alto de lo normal y que lleva un riesgo aumentado de desarrollar insuficiencia cardíaca congestiva.

35 El término "tratar", como se usa en la presente descripción, significa que la administración de un compuesto de bisfosfonato retarda o inhibe la progresión de la insuficiencia cardíaca durante el tratamiento, con relación a la progresión de la enfermedad que se puede producir en ausencia del tratamiento, de una manera estadísticamente significativa. Las marcas distintivas bien conocidas tales como la fracción de eyección del ventrículo izquierdo, rendimiento del ejercicio, y otras pruebas clínicas como se enumeró anteriormente, así como las tasas de supervivencia y tasas de hospitalización, tasas de eventos o puntos finales del compuesto se pueden usar para evaluar la progresión de la enfermedad. Si un tratamiento retarda o previene la progresión de la enfermedad o no de una manera estadísticamente significativa se puede determinar por métodos que son bien conocidos en la técnica.

40 El término "prevenir", como se usa en la presente descripción, significa minimizar o parcialmente o completamente inhibir el desarrollo de la insuficiencia cardíaca en un mamífero en riesgo de desarrollar insuficiencia cardíaca congestiva. La determinación de si la insuficiencia cardíaca se minimiza o previene por la administración de un bisfosfonato se hace por métodos conocidos.

45 El término "en riesgo de insuficiencia cardíaca", como se usa en la presente descripción, significa una persona que fuma, es obesa (es decir, el 20% o más por encima de su peso ideal), tiene (o tuvo) presión arterial alta, cardiopatía isquémica, un infarto de miocardio, un defecto genético conocido que aumenta el riesgo de insuficiencia cardíaca, una historia familiar de insuficiencia cardíaca, hipertrofia de miocardio, cardiomiopatía hipertrófica, disfunción sistólica ventricular izquierda, cirugía de derivación coronaria, enfermedad vascular, aterosclerosis, alcoholismo, pericarditis, una infección viral, gingivitis, un trastorno de la alimentación (por ejemplo, anorexia nerviosa o bulimia), es un alcohólico o adicto a la cocaína, y/o ha sido tratado con radioterapia o quimioterapia para tratar malignidades.

5 El término "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en la presente descripción, significa una cantidad de un compuesto o combinación de compuestos que mejora, atenúa o elimina uno o más síntomas de insuficiencia cardiaca o previene o retrasa la aparición de uno o más síntomas de insuficiencia cardiaca como se define en la presente descripción.

10 El término "farmacéuticamente aceptable", como se usa en la presente descripción, significa que el portador, diluyente, excipientes, y/o sal debe ser compatible con los otros ingredientes de la formulación, y no perjudiciales para el paciente. Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos incluyen sales derivadas de una base adecuada, tales como un metal alcalino (por ejemplo, sodio, potasio), un metal alcalinotérreo (por ejemplo, calcio,+ magnesio), amonio y NR'_4 (en donde R' es C_{1-4} alquilo). Las sales farmacéuticamente aceptables de un grupo amino incluyen sales de: ácidos carboxílicos orgánicos tales como ácido acético, láctico, tartárico, málico, lactobiónico, fumárico y succínico; ácidos sulfónicos orgánicos tales como ácido metanosulfónico, etanosulfónico, isetiónico, bencenosulfónico y p-toluenosulfónico; y ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, fosfórico y sulfámico. Las sales farmacéuticamente aceptables de un compuesto que tiene un grupo hidroxilo consisten del anión de dicho compuesto en conjunto con un catión adecuado tal como Na^+ , NH_4^+ , o NR'_4^+ (en donde R' es por ejemplo un grupo alquilo C_{1-4}).

20 El término "una forma de Vitamina D", como se usa en la presente descripción, significa cualquiera a partir de Vitamina D y análogo funcionalmente activo que incluyen la Vitamina D2 (ergocalciferol o calciferol) y Vitamina D3 (colecalciferol); hormonas que incluyen calcidiol, dihidrotaquisterol y calcitriol; análogos de Vitamina D o metabolitos que incluyen doxercalciferol y paricalcitol.

25 El término "análogo funcionalmente activo", como se usa en la presente descripción, significa compuestos derivados de un compuesto original particular, por sustituciones sencillas que no resultan en una pérdida sustancial (es decir, más de 100X) en la actividad biológica del compuesto original, donde dichas sustituciones son modificaciones bien conocidas por aquellos con experiencia en la técnica, por ejemplo, esterificación, sustitución de hidrógeno por halógeno, sustitución de alcoxi por alquilo, sustitución de alquilo por alcoxi, etc.

30 Como se usa en la presente descripción, el término "tejido del corazón" incluye, sin limitarse a, el miocardio del corazón (que incluye fibras musculares cardíacas, tejido conectivo (endomisio), fibras nerviosas, capilares y linfáticos); el endocardio del corazón (que incluye endotelio, tejido conjuntivo, y células de grasa); el epicardio del corazón (que incluye el tejido conjuntivo fibroelástico, vasos sanguíneos, linfáticos, fibras nerviosas, tejido graso, y una membrana mesotelial que consiste en células epiteliales escamosas); y cualquier tejido conectivo adicional (que incluye el pericardio), vasos sanguíneos, linfáticos, células de grasa, células progenitoras (por ejemplo, células progenitoras de población lateral), y tejido nervioso que se encuentra en el corazón.

40 El bifosfonato, y específicamente el ácido zoledrónico, se usa preferentemente en forma de composiciones farmacéuticas que contienen una cantidad terapéuticamente eficaz del ingrediente activo del bifosfonato opcionalmente junto con o en mezcla con portadores farmacéuticamente aceptables inorgánicos u orgánicos, sólidos o líquidos, que son adecuados para la administración.

45 Las composiciones farmacéuticas pueden ser, por ejemplo, composiciones para la administración enteral, tales como, administración rectal, inhalación por aerosol u oral, composiciones para la administración parenteral, tales como administración intravenosa o subcutánea, o composiciones para administración transdérmica, por ejemplo, pasiva o iontoforética. Preferentemente, las composiciones farmacéuticas son para la administración intravenosa. Las composiciones farmacéuticas pueden ser también para inyección o elución intracoronaria directa a partir de un dispositivo intravascular o intracardiaco.

50 El modo particular de administración y la dosificación se puede seleccionar por el médico asistente teniendo en cuenta las particularidades del paciente, especialmente edad, peso, estilo de vida, nivel de actividad, estado hormonal, por ejemplo, post-menopausia, y densidad mineral ósea, según sea adecuado. Con máxima preferencia, sin embargo, el ácido zoledrónico se administra por vía intravenosa y la dosificación del ácido zoledrónico puede depender de varios factores, incluyendo sexo, edad, peso y/o estado individual del sujeto.

55 Normalmente, la dosificación es tal que una dosis sencilla de un bifosfonato, tal como ácido zoledrónico o una sal o hidrato de este es de aproximadamente 0.002 a aproximadamente 20.0 mg/kg, preferentemente de 0.01 a 1 mg/kg, y con mayor preferencia de aproximadamente 0.04 mg/kg a aproximadamente 0.125 mg/kg. El término "mg/kg" significa mg del fármaco por kg de peso corporal del sujeto. La dosificación será determinada para que se corresponda con la frecuencia a administrar del compuesto.

60 El bifosfonato, y preferentemente el ácido zoledrónico o ibandronato, se dosifica a intervalos de al menos aproximadamente una vez al mes, cada tres meses, seis meses, por ejemplo, una vez cada 180 días, o menos

frecuentemente, convenientemente una vez al año, o en cualquier intervalo entre, por ejemplo, una vez cada 7, 8, 9, 10 o 11 meses. La dosis anteriormente mencionada, ya sea administrada como una dosis sencilla (que es preferida) o en diversas dosis parciales, se administra preferentemente una vez por año (lo que comprende, por supuesto, que puede no ser exactamente un año hasta la fecha, sino más bien en los chequeos anuales).

5 El tiempo y lugar para la inyección intracoronaria directa o entrega intravascular o intracardiaca dirigida del compuesto de bifosfonato puede depender del trastorno que se trata. En una modalidad preferida, el tratamiento con bifosfonato durante un infarto agudo de miocardio (IAM) puede preferentemente incluir al menos una inyección
10 aguda directa en la coronaria que suministra al miocardio expuesto al peligro en el momento de la reperfusión intervencionista. En una modalidad alternativa, el tratamiento con bifosfonato puede incluir la inyección directa en todas las arterias coronarias después del trasplante de corazón y periódicamente después del trasplante cardíaco. Tales pacientes se cateterizan frecuentemente para biopsias y otros procedimientos terapéuticos o de diagnóstico; estos cateterismos pueden proporcionar una oportunidad natural en la entrega dirigida del tratamiento con bifosfonato en estos trastornos. En otra modalidad alternativa, el tratamiento de la miocarditis con bifosfonato se
15 puede realizar por inyección intracoronaria en el momento del diagnóstico y periódicamente después de eso. En aun otra modalidad alternativa, se puede administrar la terapia con bifosfonato para la cardiomiopatía y varias causas de HF ya sea como un tratamiento único (una sola vez) o periódico.

20 Las formulaciones en forma de dosis unitaria sencilla contienen preferentemente de aproximadamente 1% a aproximadamente 90%, y las formulaciones que no son en forma de dosis unitaria sencilla contienen preferentemente de aproximadamente 0.1% a aproximadamente 20%, del ingrediente activo de ácido zoledrónico. Las preparaciones farmacéuticas para la administración enteral y parenteral son, por ejemplo, aquellas en formas de dosificación unitaria, tales como grageas, tabletas o cápsulas y también ampollas. Se preparan de una manera conocida per se, por ejemplo, por medio de los procesos convencionales de mezclado, granulación, confección,
25 disolución o liofilización.

Por ejemplo, para la administración oral pueden obtenerse preparaciones farmacéuticas mediante la combinación del ingrediente activo con portadores sólidos, cuando sea adecuado la granulación de una mezcla resultante, y el procesamiento de la mezcla o granulado, si se desea o es necesario después de la adición de auxiliares adecuados,
30 en los núcleos de las tabletas o grageas. Los portadores adecuados son especialmente rellenos, tales como azúcares, por ejemplo, preparaciones de lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol, celulosa y/o fosfatos de calcio, por ejemplo, fosfato tricálcico o hidrógeno fosfato de calcio, y también aglutinantes, tal como pastas de almidón, usando, por ejemplo, almidón de maíz, trigo, arroz o papa, gelatina, tragacanto, metilcelulosa y/o polivinilpirrolidona y, si se desea, desintegrantes, tales como los almidones mencionados anteriormente, además del almidón de carboximetilo, polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido algínico o una sal de estos, tal como alginato sódico. Los auxiliares son especialmente agentes de regulación de flujo y lubricantes, por ejemplo, ácido silícico, talco, ácido esteárico o sales de estos, tales como estearato magnésico o estearato cálcico y/o polietilenglicol. Los núcleos de gragea se proporcionan con recubrimientos adecuados que pueden ser resistentes a los jugos gástricos, usándose, entre otros, soluciones de azúcar concentradas que contienen opcionalmente goma arábica, talco, polivinilpirrolidona,
40 polietilenglicol y/o dióxido de titanio, o soluciones de laca en disolventes orgánicos adecuados o mezclas de disolventes o, para producir revestimientos que son resistentes a los jugos gástricos, soluciones de preparaciones de celulosa adecuadas, tales como ftalato de acetilcelulosa o ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa. Las sustancias colorantes o pigmentos pueden añadirse a los recubrimientos de las tabletas o grageas, por ejemplo para fines de identificación o para indicar diferentes dosis del ingrediente activo.

45 Otras preparaciones farmacéuticas oralmente administrables son las cápsulas rellenas en seco hechas de gelatina, y también cápsulas blandas selladas hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas rellenas en seco pueden contener el ingrediente activo en forma de un granulado, por ejemplo, en mezcla con los rellenos, tal como lactosa; aglutinantes, tales como almidones; y/o agentes de deslizamiento, tales como talco o estearato magnésico, y, cuando sea adecuado, estabilizadores. En las cápsulas blandas, el ingrediente activo preferentemente se disuelve o suspende en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, aceite de parafina o polietilenglicoles líquidos, siendo posible también que se añadan los estabilizadores.

55 Las formulaciones parenterales son especialmente fluidos inyectables que son eficaces de diversas maneras, tales como intra-arterial, intramuscular, intraperitoneal, intranasal, intradérmica, subcutánea o preferentemente por vía intravenosa. Tales fluidos son preferentemente soluciones acuosas isotónicas o suspensiones que se pueden preparar antes de su uso, por ejemplo, a partir de preparaciones liofilizadas que contienen el ingrediente activo solo o junto con un portador farmacéuticamente aceptable. Las preparaciones farmacéuticas se pueden esterilizar y/o contener adyuvantes, por ejemplo conservantes, estabilizantes, agentes humectantes y/o emulsionantes, solubilizantes, sales para regular la presión osmótica y/o amortiguadores.

60 Las formulaciones adecuadas para la aplicación transdérmica incluyen una cantidad eficaz de ingrediente activo del ácido zoledrónico con el portador. Los portadores ventajosos incluyen disolventes farmacológicamente aceptables

absorbibles para ayudar al paso a través de la piel del huésped. Como característica, los dispositivos transdérmicos se encuentran en forma de una venda que comprende un miembro de sostén, un reservorio que contiene el compuesto opcionalmente con los portadores, opcionalmente una barrera que controla la velocidad para entregar el ingrediente activo en la piel del huésped a una velocidad controlada y predeterminada durante un período de tiempo prolongado, y medio para asegurar el dispositivo a la piel.

Un método posible de la administración implica garantizar que el sujeto tenga un nivel adecuado de vitamina D antes de la administración del compuesto bifosfonato y específicamente del ácido zoledrónico. El nivel de vitamina D se puede determinar fácilmente mediante un simple análisis de sangre que determina el nivel de calcidiol (25-hidroxivitamina D). La dosis unitaria de la vitamina D se determinará por la forma específica, el número de días de la administración, edad y estado del paciente, y nivel de deficiencia de vitamina D determinado. Por ejemplo, el colecalciferol puede ser, en una dosis unitaria de la tableta de aproximadamente 400 a 5000 UI o en forma intramuscular de aproximadamente 50,000 unidades/cc a 100,000 unidades/cc; el egocalciferol en dosis unitaria de la cápsula aproximadamente 400 a 50,000 UI; calcitriol oral en una dosis de aproximadamente 0.10 a aproximadamente 1 mcg que se puede administrar al menos una vez al día o en múltiples administraciones; el calcidiol o doxercalciferol, ambos de los cuales son análogos de la vitamina D pueden administrarse en dosis unitarias de aproximadamente 300 a 2000 UI.

Una posible formulación incluye el ácido zoledrónico, una forma de vitamina D y opcionalmente calcio, en una mezcla esencialmente homogénea, en donde una solución o dosis unitaria sólida se puede administrar en una dosis única. La dosis única puede administrarse diariamente, mensualmente o anualmente, o en algún intervalo intermedio dependiendo del compuesto de bifosfonato.

En algunas aplicaciones, puede ser ventajoso utilizar el agente activo en una forma "vectorizada", tal como por encapsulación del agente activo de bifosfonato en un liposoma u otro medio encapsulador, o por fijación del agente activo, por ejemplo, mediante enlace covalente, quelación, o coordinación asociativa, en una biomolécula adecuada, tal como las seleccionadas a partir de proteínas, lipoproteínas, glicoproteínas y polisacáridos.

Ejemplos

Materiales y métodos

Compuesto de bifosfonato

El ácido zoledrónico (Zometa, Reclast®), agente de conservación de la densidad ósea de la IUPAC: ácido (1-hidroxi-2-imidazol-1-il-1-fosfoetil) fosfónico MF: C₅H₁₀N₂O₇P₂ / Entrez PCCompound CID: 68740

El ácido zoledrónico es aprobado por la FDA para el tratamiento de la osteoporosis postmenopáusica, la enfermedad ósea de Paget, y para la prevención de complicaciones esqueléticas en pacientes con ciertos tipos de cáncer, tales como mieloma múltiple y cáncer de próstata.

Animales de prueba

Mini-cerdos de Gotinga se obtuvieron de Marshall BioResources en Nueva York. El modelo de insuficiencia cardíaca en mini-cerdo creado por Synecor (N'diaye, 2008) manifiesta numerosas secuelas de la insuficiencia cardíaca en los seres humanos, incluyendo la disfunción sistólica significativa, disminución del gasto cardíaco y dilatación del ventrículo izquierdo e hipertrofia. El mini-cerdo es una subespecie ideal en la cual crear el modelo de insuficiencia cardíaca por numerosas razones. La anatomía de la arteria coronaria y la distribución en el mini-cerdo son notablemente similares a las de los humanos, al igual que las relaciones tamaño y peso del corazón para el cuerpo. Los corazones porcinos y humanos sólo tienen una red colateral pobre, una cualidad esencial cuando se trata de reproducir el perfil fisiológico general y el síndrome clínico asociado con HF. El sujeto porcino facilita la creación de un modelo consistente y reproducible. Particularmente los mini-cerdos, se seleccionaron por su más pequeño tamaño en la madurez sexual, facilidad en el manejo, y la naturaleza dócil. Además, los mini-cerdos de Gotinga se han usado ampliamente en el modelo humano de la enfermedad metabólica ósea, especialmente la osteoporosis.

Toda la cría de animales se hizo de acuerdo a *The Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* publicado por el Institute of Laboratory Animal Resources Commission on Life Science National Research Council, NATIONAL ACADEMY PRESS, 1996, y las regulaciones del USDA aplicables, sin excepción. Los animales se mantuvieron en el sitio por un mínimo de 1 semana antes del uso en el estudio. SOP y protocolos adecuados se siguieron para las condiciones de alojamiento, revisión del estado de salud, dieta, instrucciones pre-operacionales y cuidado post operatorio. Todos los animales permanecieron en el lugar durante el estudio. Antes de transportar, los animales se inspeccionaron por el veterinario y se separaron para el transporte y para su uso en el estudio de investigación. Los animales se transportaron en un camión con clima controlado y tuvieron acceso al agua en todo momento. Durante

el transporte los animales se revisaron cada cuatro horas para garantizar su seguridad y asegurar que el agua estaba disponible. Todos los animales Synecor se identificaron por un número único que se tatuó ya sea en la oreja o por etiqueta auricular.

5 Descripción del diseño experimental e identificación de los procedimientos con animales.

Diseño experimental: El mini-cerdo se sometió a los procedimientos secuenciales de embolización coronaria para inducir insuficiencia cardíaca irreversible. De dos a cuatro semanas antes del estudio, cada animal se le dio 20,000 a 40,000 UI de colecalciferol por vía oral. Los procedimientos secuenciales de embolización coronaria se realizaron en cada animal de la manera descrita en el Protocolo de IACUC núm. 014-12-06 hasta EF \leq 35% o al menos 20% menos que la lectura original. Específicamente, cada animal se sometió a cateterismos cardíacos secuenciales para la embolización de la DLA con partículas de esponja de gelatina. Todos los procedimientos de intervención se realizaron usando una técnica estéril bajo anestesia general con un control adecuado del dolor post-operatorio. Los procedimientos de embolización se realizaron cada 1-2 semanas hasta EF (pre-embolización medida) \leq 35 % o al menos 20% menos que la lectura original. Esta técnica eventualmente agotó la capacidad del miocardio para compensar la lesión isquémica, que conduce a la HF se caracteriza por fracción de eyección disminuída, SVR aumentada, hipertrofia de LV y volumen diastólico final de LV aumentado, PCWP aumentado, ANF aumentado y la secreción de noradrenalina y la fibrosis miocárdica parcheada en el examen histológico (Sabbah y otros 1991, Sakaguchi y otros 2003, Li y otros 2005).

Después de un período de estabilización de 2 semanas, seguido de la documentación de la HF persistente por el cateterismo cardíaco, los animales se asignaron al azar a un grupo de fármaco de dosis estándar o grupo de control. Los estudios de valores iniciales, además del ecocardiograma incluyeron el monitoreo de 24 horas Holter y la medición de suero, plasma, y biomarcadores celulares. Los animales se trataron con el fármaco del estudio o placebo 24 horas después de la adquisición de los estudios de valores iniciales. Durante las siguientes 12 semanas los mini-cerdos se mantuvieron como se describen más abajo y los estudios se realizaron a intervalos como se resumen en la Tabla 1.

Procedimiento	HF documentada-valor inicial (Día 1)	24 Hrs (Día 2)	1 Semana (Día 7)	2 Semanas (Día 14)	6 Semanas (Día 42)	12 Semanas (Día 84)
Ecocardiograma	X			X	X	X
24 Hrs Holter	X (0-24 hrs)	X (24-48 hrs post-fármaco)	X	X	X	X (24 hrs antes del estudio punto final)
Sangrado/Marcadores	X	X	X	X	X	X
Infusión del fármaco en estudio 15 min infusión		X				

Fármaco en estudio: El ácido zoledrónico (agente de conservación de la densidad ósea) debe administrarse como sigue:

- A. Grupo 1 (Control) los animales recibieron una infusión de 15- 30cc de placebo con salina.
- B. Grupo 2 (Dosis estándar) los animales recibieron una infusión por vía intravenosa de 100 microgramo/kilogramo de peso corporal de ácido zoledrónico con 15cc de 0.5 salina normal durante 15 minutos.

Procedimientos de intervención:

Cada animal se sometió a \geq 2 cateterismos cardíacos secuenciales para la embolización de la DLA con partículas de esponja de gelatina. Los procedimientos de embolización se realizaron cada 2 semanas hasta EF (pre-embolización medida) $<$ 35% o al menos 20% menos que la lectura original. Una pieza de 20 mg de esponja de gelatina (Gelfoam; Pharmacia & Upjohn, Peapack, NJ) se cortó en piezas de 1 mm³) y se mezcló con 2 ml de medio de contraste y 2 ml de salina heparinizada. 1.0 ml de la mezcla de gelatina-esponja se inyectó durante 90 segundos en la LAD entre las primera y segunda ramas diagonales. La embolización se repitió cada 30 minutos hasta que el deterioro significativo

del tiempo de llenado de LAD o se produzca la arritmia maligna. El tosilato de bretilio (5 mg/kg) se administró antes de la embolización para reducir el riesgo de arritmia. (Schumann 1993). EKG se monitorizó continuamente durante todo el procedimiento.

5 Evaluación hemodinámica: Las evaluaciones hemodinámicas descritas en la presente se llevaron a cabo durante cada procedimiento intervencionista. Presiones aórticas y LV diastólica finales se midieron al inicio del estudio, a lo largo, y hasta 1 hora después de cada procedimiento microembolización través de micromanómetros de catéter de punta (Millar Instruments, Houston, TX). Se midieron las presiones PCWP, PA, RA, y RV durante el mismo periodo de tiempo usando un catéter de Swan-Ganz con transductor de presión acoplado. Las mediciones triplicadas del
10 gasto cardíaco se realizaron usando técnica de termodilución. Se midió continuamente la presión arterial a través de la envoltura de la arteria femoral.

Angiografía coronaria: La cineangiografía y ventriculografía se realizó antes y después de cada procedimiento de embolización para evaluar los volúmenes del LV y tiempo de llenado de LAD.

15 Monitoreo Continuo Holter se realizó durante 24 horas pre y post- infusión del fármaco, y también durante 24 horas cada en 1 semana, 2 semanas, 6 semanas y 12 semanas.

Biomarcadores: Los siguientes biomarcadores se evaluaron al inicio del estudio, 24 horas, 1 semana, 2 semanas, 6
20 semanas y 12 semanas: CRP, IL6, IL-1, IL-18, BNP, TNF alfa, ESR, osteoprotegerin, troponinas cardíacas específicas, ensayo de proliferación dendrítica celular (citometría de flujo), ensayo de células T gamma-delta (citometría de flujo), liberación de granzima (actividad de medición de los linfocitos CD8) , ensayo de interferón gamma (actividad de los linfocitos CD4/respuesta auxiliadora Th1), niveles cuantitativos de inmunoglobulina (función de célula B), 25-hidroxivitamina D, PTH, CTX-1, CTX-2, P1NP, y osteocalcina. Alternativamente, o adicionalmente,
25 en los puntos de tiempo la sangre se guardó para el análisis en una fecha posterior.

Necropsia e histología se realizó después de que cada animal se sacrifica bajo anestesia a las 12 semanas. Los animales inician los 3 estudios a la vez, escalonados a intervalos de 6 semanas.

30 Ejemplo 1:

La utilidad del compuesto de bifosfonato de la presente invención como agentes médicos en el tratamiento o prevención de HF en animales, particularmente mamíferos (por ejemplo, seres humanos) se demostró por la actividad de los compuestos en la prueba *in vivo* que se describe más abajo.

35 Este ejemplo describe el tratamiento de un mini-cerdo en la insuficiencia cardíaca inducida. Aproximadamente 1 semana antes del procedimiento para crear la insuficiencia cardíaca, se le dio a los cerdos 10-15,000 UI de colecalciferol por vía oral. El mini-cerdo se sometió a las embolizaciones coronarias secuenciales que crean la insuficiencia cardíaca de la forma descrita anteriormente. Los cateterismos se realiza bajo anestesia general y los
40 procedimientos microembolización se interrumpieron cuando la fracción de eyección (EF) fue de aproximadamente \geq 20% con respecto a los valores de la prueba inicial.

Después el cerdo desarrolló insuficiencia cardiaca como se evidencia por la reducción en el valor de EF, el cerdo se trató después con ácido zoledrónico. El cerdo 1 (2514), 2 (4997) 3 (5272) y 4 (6928) recibió una infusión intravenosa de 100 microgramos/kilogramo de peso corporal de ácido zoledrónico en 15cc de 0.5 solución salina normal durante
45 15 minutos. El cerdo 5 (6167), 6 (7479), 7 (5760) y 8 (0492) recibió una infusión de 15cc de placebo con salina.

Después de la administración del fármaco y placebo, el EF se probó aproximadamente cada 2 semanas. Los resultados, tanto para el control y el grupo ácido zoledrónico se muestran en la Figura 1. Como se evidencia por los resultados que se exponen en la Figura 1, el cerdo 2514 tuvo una fracción de eyección en los valores iniciales que fue al menos 70% y durante la serie de embolizaciones, el cerdo 2514 tuvo una reducción de 40% (un valor consistente con la insuficiencia cardíaca). Es notable en el día 42, se embolizó el cerdo 2514 durante un tiempo final que efectuó la reducción de 40% de EF. Se administró después 100 ug/kg de ácido zoledrónico en este animal de prueba (2514) y 14 días después que se administró el ácido zoledrónico al animal de prueba, la fracción de eyección
50 aumentó casi al 57.8% que se mantuvo durante aproximadamente 12 semanas. El cerdo de prueba 2, 3 y 4, exhibió además un aumento en EF. Es notable que, el cerdo de control no mostró un aumento en la fracción de eyección y estuvo esencialmente al mismo nivel de la fracción de eyección después del completamiento de la embolización.

La Figura 2 ilustra gráficamente los valores medios del cerdo control y tratado con zoledrónico como se expone en la Figura 1 y es evidente que después del tratamiento con el ácido zoledrónico, la fracción de eyección aumentó lentamente durante el período de seis semanas. Es notable que el efecto fue estáticamente significativo. El grupo de control no observó un efecto similar. Este resultado indica que el compuesto de ácido zoledrónico redujo los efectos de la insuficiencia cardíaca.

La Figura 3 ilustra gráficamente que al final de las seis semanas hubo un aumento de casi 12% en la fracción de eyección, que es dependiente del tiempo y estadísticamente significativo. En el control, el aumento en el grupo de control de cerdos mostró aproximadamente un 1 % de aumento. Basado en los datos anteriores, se puede concluir que el tratamiento con un bifosfonato es eficaz y se puede proponer como una terapia para la mejoría de la función cardíaca en una variedad de estados de enfermedad, incluyendo HF.

Referencias

- 10 Todas las referencias citadas en la presente se incorporan por este medio como referencia para todos los propósitos de la presente descripción.
- 15 Colon-Emeric C, Caminis J, Suh TT, Pieper CF, Janning C, Magaziner J, Adachi J, Rosario-Jansen T, Mesenbrink P, Horowitz ZD, Lyles KW The HORIZON Recurrent Fracture Trial: Design of a clinical trial in the prevention of subsequent fractures in elders after low trauma hip fracture repair. *Curr Med Opin Res.*, 2004; 20:903-910.
- 20 N'diaye CS, O'Connor CM. Progressive myocardial dysfunction induced in porcine model by two-stage coronary embolization with gelatin sponge. Poster presented at Alpha Omega Alpha Research Symposium Duke University Medical Center, 8 de agosto de 2008.
- 25 Li HH, Shen ZY, Hui J, Li K, Zheng L, Jiao P, Teng XM, Zhu JZ, Gao WD, Yang JH, Zhou BY. 2005. A pig model of myocardial infarction by intracoronary embolization with gelatin sponge [resumen en inglés; artículo en chino]. *Zhonghua Yi Xue Za Zh*, 85(9):599-601.
- 30 Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, y otros Heart Disease and Stroke Statistics-2009 Update: A Report From the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulatio*. 27 de enero de 2009 2009;119(3):e21-181.
- 35 Lyles KW, Colon-Emeric CS, Magaziner JS, Adachi JD, Pieper CF, Mautalen C, Hylstrup L, Recknor C, Nordsletten L, Moore KA, Lavecchia C, Zhang J, Mesenbrink P, Hodgson PK, Abrams K, Orloff JJ, Horowitz Z, Eriksen EF, Boonen S. Zoledronic acid and clinical Fractures and Mortality after Hip Fracture. *N Engl J Med.*, 2007;357:1799-1809.
- Reinwald S, Burr D. Review of Nonprimate Large Animal Models for Osteoporosis Research. *J Bone Miner Res* 2008 23:1353-13468.
- Rosen, CJ. Postmenopausal Osteoporosis. *N Engl J Med.*, 2005 353:595-603.
- 40 Sabbah HN, Stern PD, Kono T, Gheorgiade M, Levine TB, Jafri S, Hawkins ET, Goldstein S. A canine model of chronic heart failure produced by multiple sequential microembolizations. *Am J Physiol Heart Circ Physio.*, 1991;260(4):H1379-84.
- 45 Sakaguchi G, Sakakibara Y, Tambara K, Lu F, Premaratne G, Nishimura K, Komeda M. 2003. A pig model of chronic heart failure by intracoronary embolization with gelatin sponge. *Ann Thorac Surg.*, 75:1942-7.
- Schumann RE, Harold ME, Gillette PC, Swindle MM, Gaymes CH. Prophylactic treatment of miniswine with bretylium for experimental cardiac catheterization. *Lab Anim Sci.*, 1993 jun; 43(3):244-6.
- 50 Swindle, MM. Technical bulletin: anesthesia and analgesia in miniswine [http://www.sinclairresearch.com/PDF/Files/anesthesia and analgesic in miniswine.pdf](http://www.sinclairresearch.com/PDF/Files/anesthesia%20and%20analgesic%20in%20miniswine.pdf)
- 55 Swindle MM, Horneffer PJ, Gardner TJ, Gott VL, Hall TS, Stuart RS, Baumgartner WA, Borkon AM, Galloway E, Reitz BA. Anatomic and anesthetic considerations in experimental cardiopulmonary surgery in miniswine. *Lab Anim Sci.* 1986 ago;36(4):357-61.
- Varela I, Pereira S, Ugalde AP, Navarro CL, Suarez MF, Cau P, Cadinanos J, Osorio FG, Foray N, Cobo J, de Carlos F, Levy N, Freije JMP, Lopez-Otin C. Combined treatment with statins and aminobisphosphonates extends longevity in a mouse model of human premature aging. *Nature Medicine*, 2008;14:767-772.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un bifosfonato o una sal farmacéuticamente eficaz de este para su uso en el tratamiento o prevención de la insuficiencia cardiaca en un sujeto, en donde el bifosfonato es para la administración por vía intravenosa u oral a una dosis de aproximadamente 40 µg/kg a aproximadamente 125 µg/kg, en donde el sujeto experimenta la fracción de eyección cardiaca mejorada.
- 10 2. El bifosfonato o sal farmacéuticamente eficaz para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el bifosfonato es el ácido zoledrónico.
- 15 3. El bifosfonato o sal defarmacéuticamente eficaz para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde la dosificación es anualmente o semi-anualmente para la administración al sujeto.
- 20 4. E bifosfonato o sal farmacéuticamente eficaz para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el sujeto exhibe un aumento en la fracción de eyección de aproximadamente 10% a 20% después de la administración del ácido zoledrónico.
- 25 5. El bifosfonato o sal farmacéuticamente eficaz para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el ácido zoledrónico es para la administración después de una dosificación de vitamina D.
- 30 6. El bifosfonato o sal farmacéuticamente eficaz para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde al menos otro agente terapéutico seleccionado del grupo que consistente de nitratos, bloqueadores beta-adrenérgicos, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, antagonistas de los canales de calcio, agentes antihipertensivos, agentes reductores del colesterol, diuréticos, inhibidores de la ACE, glucósidos cardíacos, antagonistas II de la angiotensina no peptídica, antagonistas IIb/IIIa y aspirina es para la administración adicional al paciente.
- 35 7. El bifosfonato o sal farmacéuticamente eficaz para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dichos resultados de insuficiencia cardíaca de al menos una de las condiciones siguientes: hipertensión; cardiopatía isquémica; exposición a un compuesto cardiotóxico; terapia de radiación, miocarditis; enfermedad de tiroides; infección viral; abuso de drogas; abuso de alcohol; periocarditis; aterosclerosis; enfermedad vascular; miocardiopatía hipertrófica; infarto agudo de miocardio; disfunción sistólica ventricular; disfunción diastólica ventricular, cirugía de derivación coronaria; disminución de la contracción del ventrículo izquierdo; un aumento en las citoquinas inflamatorias o un defecto genético.
- 40 8. El bifosfonato o sal farmacéuticamente eficaz para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el bifosfonato es para la administración antes del diagnóstico de la insuficiencia cardiaca en el sujeto
- 45 9. El bifosfonato o sal farmacéuticamente eficaz para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el bifosfonato es para la administración después del diagnóstico de la insuficiencia cardiaca en el sujeto
10. El bifosfonato o sal farmacéuticamente eficaz para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el bifosfonato es para la administración simultáneamente con una terapia de radiación o compuesto cardiotóxico.
11. El bifosfonato o sal farmacéuticamente eficaz para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el compuesto de bifosfonato se selecciona del grupo consistente de ácido zoledrónico, risedronato, alendronato, cimadronato, clodronate, tiludronato, etidronato, ibandronato, pirdronato o pamidronato.

# ID	Tratamiento	Fracción de Eyección							
		Valor inicial (Pre-embolización)	Valor inicial de HF (Pre-Infusión)	2 Sem.Post-Infusión	Δ del Valor Inicial	6 Sem.Post-Infusión	Δ del Valor Inicial	12 Sem.Post-Infusión	Δ del Valor Inicial
2514	Dosis Est. A.Z.	71.6%	40.8%	57.8%	17.0%	53.0%	12.2%	55.7%	14.9%
4997	Dosis Est. A.Z.	51.4%	30.0%	36.9%	6.9%	41.9%	11.9%	37.5%	7.5%
5272	Dosis Est. A.Z.	48.7%	37.6%	50.0%	7.6%	43.2%	5.6%	37.0%	-0.6%
6928	Dosis Est. A.Z.	61.5%	23.7%	47.4%	23.7%	41.2%	17.5%	41.2%	17.5%
6167	Salina	55.1%	38.0%	40.5%	2.5%	42.7%	4.2%	47.0%	9.0%
7479	Salina	42.9%	30.3%	26.5%	-3.8%	33.4%	3.1%	24.1%	-6.2%
5760	Salina	67.0%	39.3%	43.0%	3.7%	38.0%	-1.3%	38.0%	3.7%
6192	Salina	51.2%	32.0%	36.5%	-4.5%	28.7%	-3.3%	30.9%	-1.1%
Acido Zoledrónico	Media	58.3%	33.0%	43.5%	10.5%	44.8%	11.8%	42.9%	9.8%
	Desv. Est.	10.4%	7.7%	11.9%	13.5%	5.5%	4.9%	8.8%	8.1%
Salina	Media	54.1%	34.9%	36.6%	1.7%	35.7%	0.8%	34.0%	0.6%
	Desv. Est.	10.0%	4.4%	7.3%	3.8%	6.0%	3.7%	11.8%	7.7%

	-51	0	14	-42
Acido Zoledrónico	68.3%	33.0%	43.5%	44.8%
Salina	54.1%	34.9%	36.6%	35.7%

Figura 1

Fracción de Eyección al inicio, 2 semanas
y 6 semanas Post-Infusión del ácido Zoledrónico o Salina
en mini-cerdos con
Insuficiencia Cardiaca Crónica

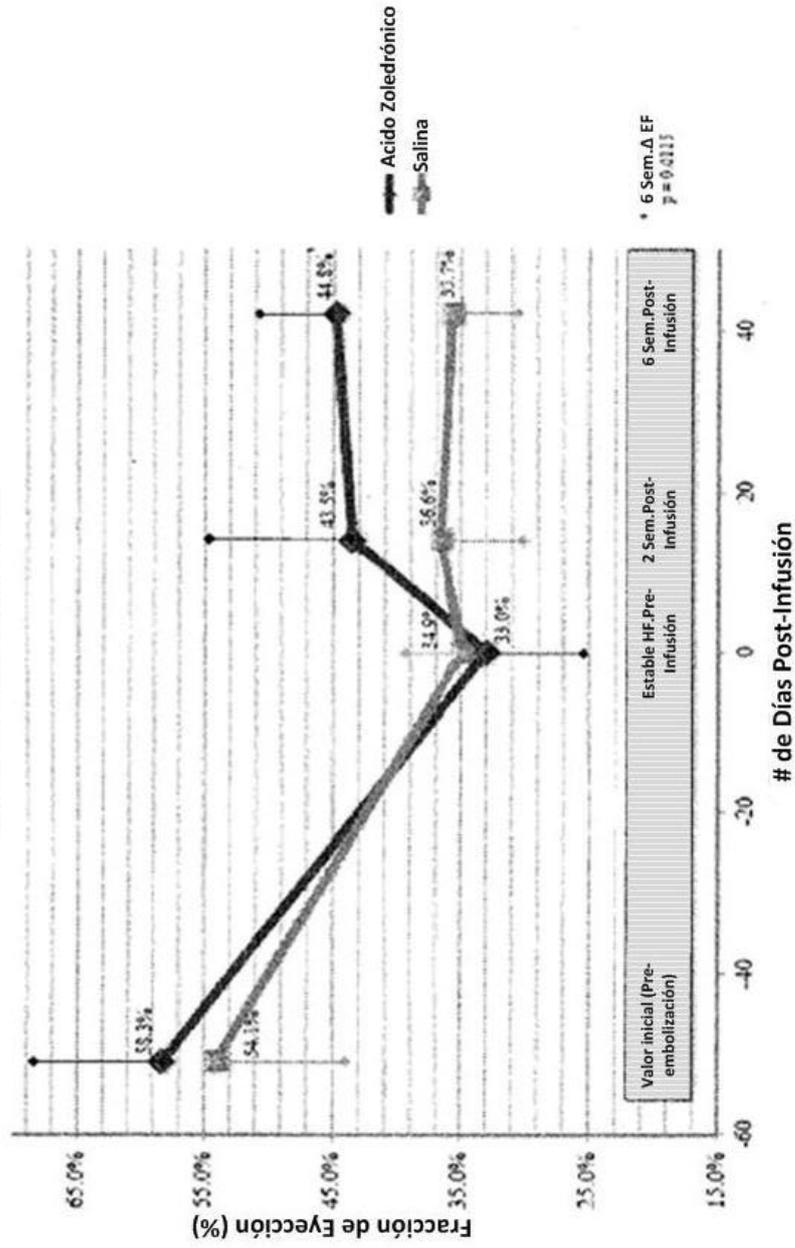


Figura 2

Cambio absoluto en la Fracción de Eyección en las semanas 2 y 6
Post- Infusión de ácido Zoledrónico o salina en mini-cerdos con
insuficiencia cardiaca crónica

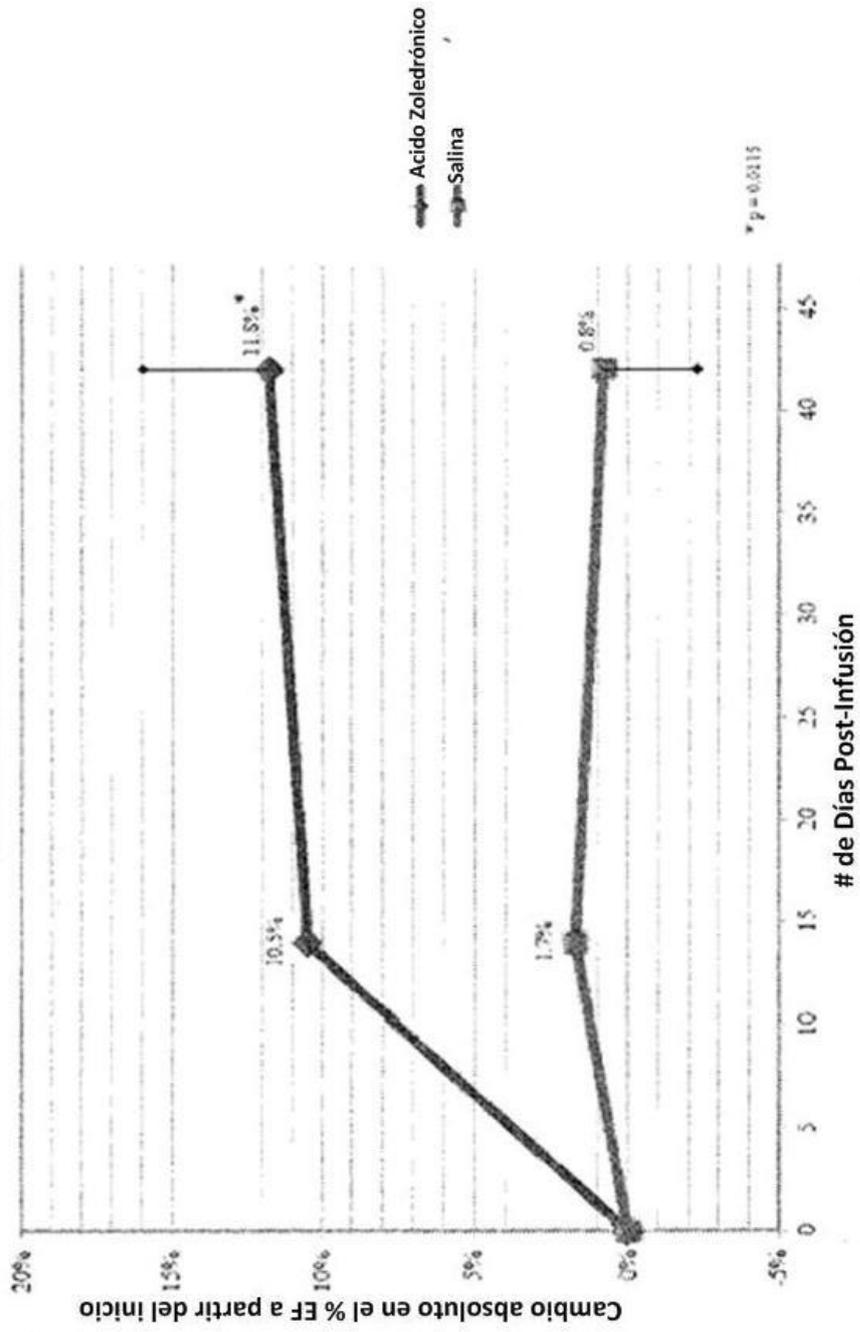


Figura 3