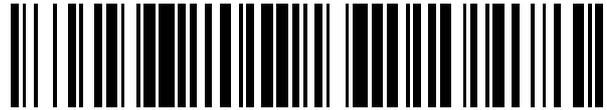


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 548 719**

51 Int. Cl.:

A61K 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.06.2004 E 04785964 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.09.2015 EP 1643982**

54 Título: **Método para tratar el infarto de miocardio agudo**

30 Prioridad:

27.06.2003 US 607623

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

20.10.2015

73 Titular/es:

**BIOREST LTD. (100.0%)
Kiryat Atidim, Bldg. 8
Tel Aviv, 6158101, IL**

72 Inventor/es:

**EDELMAN, ELAZER R.;
GOLOMB, GERSHON y
DANENBERG, HAIM D.**

74 Agente/Representante:

ZUAZO ARALUZE, Alexander

ES 2 548 719 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).

MÉTODO PARA TRATAR EL INFARTO DE MIOCARDIO AGUDO**DESCRIPCIÓN****5 Antecedentes de la invención**

Pese al avance en diversos medios terapéuticos, el infarto de miocardio agudo (AMI) todavía es la causa principal de mortalidad en el mundo occidental. El infarto de miocardio agudo se refiere a un estado clínico común que conduce a necrosis del tejido miocárdico. Este estado se conoce bien en la técnica y se caracteriza por la aparición de dolor, en la mayoría de los casos precordial, cambios electrocardiográficos característicos y un aumento en los niveles plasmáticos de enzimas intracelulares liberadas por el tejido cardíaco necrótico tales como creatinina fosfocinasa y α -hidroxibutirato deshidrogenasa. El AMI puede ir acompañado por hipotensión, insuficiencia circulatoria, edema pulmonar y arritmia. En la mayoría de los casos, pero no exclusivamente, el AMI resulta de lesión vascular y trombosis en los vasos coronarios, lo que hace que estos vasos lleguen a ocluirse con flujo sanguíneo afectado posterior al miocardio amenazado (Fuster, V. *et al.*, 1992, *New Engl. J. Med.*, 326:242 y 310). En la mayoría de los casos, el tiempo de la oclusión del vaso coronario puede estimarse a partir de la historia clínica, el curso de los niveles plasmáticos de enzimas intracelulares del músculo cardíaco y los cambios electrocardiográficos.

El acontecimiento de inicio de muchos infartos de miocardio (ataques cardíacos) es la ruptura de una placa aterosclerótica. Una ruptura de este tipo puede dar como resultado la formación de un trombo o coágulo sanguíneo en la arteria coronaria que abastece a la zona de infarto. La zona o área de infarto, tal como se denomina comúnmente, es un área de necrosis que resulta de una obstrucción de la circulación sanguínea. El trombo formado está compuesto por una combinación de fibrina y plaquetas sanguíneas. La formación de un coágulo de fibrina-plaquetas tiene graves consecuencias clínicas. La ubicación, el grado y la duración de la oclusión producida por el coágulo de fibrina-plaquetas pueden determinar la masa de la zona de infarto y el grado de daño.

El infarto de miocardio se produce generalmente con una disminución brusca en el flujo sanguíneo coronario a la zona de infarto que sigue a una oclusión trombótica de una arteria coronaria. La arteria ocluida a menudo se ha estrechado previamente por aterosclerosis y el riesgo de infarto de miocardio recurrente persiste en muchos pacientes. Finalmente, el grado de daño miocárdico producido por la oclusión coronaria depende del "territorio" abastecido por el vaso afectado, del grado de oclusión del vaso, de la cantidad de sangre suministrada por vasos colaterales al tejido afectado y de la demanda de oxígeno del miocardio cuyo riego sanguíneo se ha limitado repentinamente (Pasternak, R. y Braunwald, E., 1994, *Acute Myocardial Infarction*, *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 13^a Ed., págs. 1066-77.)

Se ha relacionado la inflamación tanto con la patogénesis de infartos de miocardio agudos como con la cicatrización y reparación tras el AMI. La isquemia miocárdica provoca una respuesta inflamatoria. Además, la reperfusión, el fundamento de la terapia aguda actual del AMI, también potencia la inflamación. La reperfusión implica la rápida disolución del trombo que ocluye y el restablecimiento del flujo sanguíneo al área del corazón que ha tenido su riego sanguíneo interrumpido. Tradicionalmente se ha creído que la presencia de células inflamatorias en los tejidos miocárdicos isquémicos representa la respuesta fisiopatológica a la lesión. Sin embargo, estudios experimentales han mostrado que aunque es crucial para la cicatrización, el influjo de células inflamatorias al interior de los tejidos, específicamente macrófagos que son células fagocíticas, da como resultado una lesión tisular aparte de la producida por la isquemia sola.

Los macrófagos y otros leucocitos se infiltran en el miocardio poco después de que surja la isquemia. Los macrófagos secretan varias citocinas, que estimulan la proliferación de fibroblastos. Sin embargo, los macrófagos activados también secretan citocinas y otros mediadores que potencian el daño miocárdico. Por consiguiente, el influjo de macrófagos al interior del miocardio aumenta la necrosis miocárdica y expande la zona de infarto. Por tanto, aunque la fase aguda de la inflamación es una respuesta necesaria para el proceso de cicatrización, la activación persistente es de hecho perjudicial para el área de infarto así como para el área que lo rodea, la denominada "zona peri-infarto".

La respuesta inflamatoria que sigue a la isquemia miocárdica es crítica en la determinación de la gravedad del daño resultante producido por los macrófagos activados. Se ha mostrado que los niveles plasmáticos de factores quimiotácticos inflamatorios (proteína quimioatrayente de macrófagos-1 (MCP-1), proteína inflamatoria de macrófagos-1 alfa (MIP-1 alfa)), se correlacionan con la insuficiencia cardíaca y la disfunción del ventrículo izquierdo posteriores (véase, por ejemplo, Parissis, J. T. *et al.*, 2002, *J. Interferon Cytokine Res.*, 22(2):223-9). La monocitosis periférica (un número elevado de monocitos) a los dos y tres días tras el AMI está asociada con la disfunción del ventrículo izquierdo y el aneurisma del ventrículo izquierdo, lo que sugiere un posible papel de los monocitos en el desarrollo de la remodelación del ventrículo izquierdo tras el AMI reperfundido (Maekawa, Y. *et al.*, 2002, *J. Am. Coll. Cardiol.*, 39(2):241-6). La remodelación del ventrículo izquierdo tras el infarto de miocardio agudo es el proceso de expansiones de infarto seguido por dilatación del ventrículo izquierdo progresiva y está asociado con un desenlace clínico adverso. Además, los niveles plasmáticos de la proteína quimioatrayente de macrófagos-1 (MCP-1) son elevados en pacientes con infarto de miocardio agudo. La MCP-1 se induce por isquemia miocárdica/lesión por reperfusión y la neutralización de esta quimioquina redujo significativamente el tamaño del infarto.

Se mostró que la supresión de la respuesta inflamatoria por materiales compuestos antiinflamatorios no específicos tras la oclusión coronaria, en varios modelos de oclusión/reperfusión coronaria, reducía el área de infarto (véase, por ejemplo, Squadrito, F. *et al.*, 1997, Eur. J. Pharmacol.; 335:185-92; Libby, P. *et al.*, 1973, J. Clin. Invest., 3:599-607; Spath J. A. *et al.*, 1974, Circ. Res., 35: 44-51). Sin embargo, estos regímenes no específicos están asociados con efectos adversos, tales como interferencia con la formación de cicatriz y cicatrización; y, conducen, en algunos pacientes, al desarrollo de aneurisma y ruptura de la pared ventricular. Como tal, estos regímenes se excluyen del uso clínico. Por otra parte, se mostró que los animales deficientes en la citocina antiinflamatoria interleucina-10, que suprime la función de los macrófagos, padecen un tamaño de infarto aumentado y necrosis miocárdica en un modelo de oclusión coronaria (Yang, Z. *et al.*, 2000, Circulation, 101:1019-1026.)

Un objetivo terapéutico principal de la cardiología moderna es diseñar estrategias dirigidas a minimizar la necrosis miocárdica y a optimizar la reparación cardiaca tras el infarto de miocardio. Un objetivo de la invención es describir métodos que minimicen los efectos perjudiciales producidos por una disminución brusca en el flujo sanguíneo miocárdico. Otro objetivo de la invención es describir tratamientos que limiten el daño al miocardio y al área de infarto tras el infarto de miocardio agudo.

Sumario de la invención

Según la presente invención, se proporciona una formulación para su uso en un tratamiento de un infarto de miocardio agudo. Más particularmente, la presente invención se refiere a una formulación para su uso en un tratamiento relacionado con minimizar la necrosis miocárdica, reducir la zona de infarto final y mejorar la reparación cardiaca y el desenlace tras el infarto de miocardio agudo. Los problemas subyacentes a la invención se resuelven mediante una formulación para su uso según las reivindicaciones 1 y 9.

La divulgación en el presente documento se refiere a un método para tratar el infarto de miocardio mediante la administración a un individuo de una cantidad eficaz de una formulación que inhibe y/o reduce las células fagocíticas con alta especificidad, suprimiendo de ese modo la respuesta inflamatoria que se produce durante y tras el infarto de miocardio agudo. La formulación comprende un agente que es un inhibidor intracelular que se libera dentro de las células fagocíticas seleccionadas como diana, específicamente macrófagos/monocitos, e inhibe y/o destruye los macrófagos y/o los monocitos, reduciendo de ese modo la zona de infarto final y mejorando la reparación cardiaca y la remodelación miocárdica. Puesto que los macrófagos y los monocitos poseen la capacidad única de fagocitar cuerpos grandes, el agente se formula para dar un tamaño específico de modo que puede entrar en las células a través de fagocitosis. Por tanto, la formulación dimensionada específicamente selecciona como diana selectivamente monocitos/macrófagos. La formulación puede comprender un agente encapsulado, un agente embebido o un agente particulado, en la que la formulación es de un tamaño específico, de modo que puede entrar principalmente en las células a través de fagocitosis.

El documento US 2002/0187184 A1 da a conocer un método para tratar o prevenir la reestenosis que comprende la administración de una cantidad eficaz de un principio activo que comprende una partícula de bifosfonato o un agente particulado de bifosfonato. El bifosfonato puede estar encapsulado, embebido o adsorbido dentro de la partícula, dispersado uniformemente en la matriz polimérica, adsorbido sobre la superficie de la partícula, o en combinación de cualquiera de estas formas. Las partículas incluyen liposomas o partículas poliméricas inertes tales como microcápsulas, nanocápsulas, nanopartículas, nanoesferas o micropartículas. La divulgación de este documento se limita al tratamiento de la reestenosis. En particular, la invención dada a conocer se refiere a la disminución del engrosamiento del revestimiento interno de los vasos sanguíneos que resulta de la estimulación y la proliferación de células del músculo liso y otra migración y proliferación celular, y de la acumulación de matriz extracelular, tras varios procedimientos de angioplastia.

El documento US 2002/0192157 A1 se refiere al tratamiento y el diagnóstico de enfermedad mediada por macrófagos que implica un conjugado o un complejo que puede unirse a macrófagos activados. La divulgación no se refiere a un agente encapsulado, un agente embebido o un agente particular con un tamaño específico.

El documento DE 196 37 890 A1 da a conocer liposomas que contienen bifosfonato con diámetros menores de 200 nm, preferiblemente menores de 100 nm, para prevenir el rechazo al trasplante.

El artículo científico "Monocyte-related cytokines in acute myocardial infarction" de Tashiro *et al.*, American Heart Journal, Volumen 130, Número 1, 1995, páginas 446 a 452, intenta elucidar el papel de los monocitos en el sistema de citocinas en el infarto de miocardio agudo. Este artículo se ocupa principalmente de la variación de monocitos/macrófagos en el transcurso del AMI. En conclusión, este artículo sólo intenta explicar la contribución de las citocinas en el transcurso del AMI y los motivos para el mismo.

En una realización, se da a conocer en el presente documento un método para tratar el infarto de miocardio mediante la administración a un individuo de una cantidad eficaz de una formulación que comprende un agente encapsulado. El agente se encapsula en un portador adecuado de una dimensión específica. La formulación selecciona como diana específicamente células fagocíticas en virtud de sus propiedades, tales como, por ejemplo, el

tamaño, lo que permite que la formulación se capte principalmente por fagocitosis. Una vez que la formulación se ha captado por las células fagocíticas, el agente encapsulado se libera y el agente puede inhibir la actividad de y/o destruir las células fagocíticas.

5 En una realización adicional, se da a conocer en el presente documento un método para tratar el infarto de miocardio agudo mediante la administración a un individuo de una cantidad eficaz de una formulación que comprende un agente embebido. El agente se embebe en un portador adecuado de una dimensión específica. La formulación selecciona como diana específicamente células fagocíticas en virtud de sus propiedades, tales como, por ejemplo, el tamaño, lo que permite que la formulación se capte principalmente por fagocitosis. Una vez dentro de las células fagocíticas, el agente embebido se libera y el agente actúa por vía intracelular para inactivar y/o destruir las células.

15 Se da a conocer en el presente documento un método para tratar el infarto de miocardio agudo y para reducir la zona de infarto mediante la administración a un individuo de una cantidad eficaz de una formulación que comprende un agente particulado. La formulación selecciona como diana específicamente células fagocíticas en virtud de sus propiedades, tales como, por ejemplo, el tamaño, lo que permite que la formulación se capte principalmente por fagocitosis. Una vez dentro de las células fagocíticas, el agente actúa por vía intracelular para inactivar y/o destruir las células.

20 En una realización adicional, se da a conocer en el presente documento una composición farmacéutica que comprende una formulación seleccionada del grupo que consiste en un agente encapsulado, un agente embebido y un agente particulado junto con un portador, estabilizador o diluyente farmacéuticamente aceptable para el tratamiento del infarto de miocardio.

25 La formulación de la presente invención comprende agentes en el intervalo de tamaño de 0,03-1,0 micrómetros. Sin embargo, dependiendo del tipo de agente y/o el portador usado, los intervalos más preferidos incluyen, pero no se limitan a, 0,1-0,5 micrómetros, 0,1-0,3 micrómetros y de 0,1 a 0,18.

Descripción de las figuras

30 La figura 1 ilustra el efecto del tratamiento con alendronato liposómico sobre el área de infarto tras oclusión transitoria de la arteria coronaria en conejos. Los resultados presentan el área de la zona infartada como un % del área del ventrículo izquierdo abastecida por la arteria ocluida y en riesgo de infarto posterior.

35 La figura 2 ilustra el efecto del tratamiento con alendronato liposómico sobre la morfometría miocárdica tras oclusión coronaria reversible en conejos.

La figura 3 ilustra la reducción en la infiltración de macrófagos tras el tratamiento con alendronato liposómico tras oclusión coronaria reversible en conejos.

40

Descripción detallada de la invención

45 La presente invención se refiere a formulaciones para tratar el infarto de miocardio. Más particularmente, la presente invención incluye un método para tratar el infarto de miocardio mediante la administración a un individuo de una cantidad eficaz de un agente conocido por reducir, inactivar o inhibir monocitos en sangre y macrófagos tisulares. El agente se formula de manera que puede entrar principalmente en una célula a través de fagocitosis. Por ejemplo, el agente puede encapsularse en un liposoma de un tamaño específico, embeberse en una nanopartícula de un tamaño específico o formularse para dar una forma particulada, tal como, por ejemplo, en agregados de un tamaño específico. El agente, cuando se formula para dar un tamaño particular, selecciona como diana específicamente, y se envuelve eficazmente mediante fagocitosis por, los macrófagos y monocitos. Por consiguiente, la formulación no selecciona como diana y por tanto no afecta a células no fagocíticas. Una vez dentro de los macrófagos y/o monocitos, el agente se libera e inactiva o destruye las células. La reducción y/o inhibición de monocitos en sangre y macrófagos tisulares suprime la respuesta inflamatoria tras el infarto de miocardio agudo. Como resultado, se reduce la zona de infarto final y se mejora la remodelación miocárdica. La zona de infarto reducida y la remodelación apropiada se correlacionan con disfunción del ventrículo izquierdo disminuida, morbilidad disminuida y mortalidad disminuida.

60 La presente invención engloba un agente que se formula de modo que puede entrar principalmente en una célula a través de fagocitosis y seleccionar como diana selectivamente macrófagos y monocitos sin afectar a otras células no fagocíticas. Una vez dentro de las células fagocíticas, el agente se libera e inhibe y/o reduce los monocitos y/o macrófagos para el tratamiento del infarto de miocardio, la reducción en la zona de infarto final y la mejora de la reparación cardíaca y el desenlace tras el infarto de miocardio agudo. Las formulaciones pueden comprender un agente encapsulado, un agente embebido o un agente en forma particulada, todos ellos de una dimensión específica, lo que permite la captación principalmente a través de fagocitosis.

65 En una realización, la formulación comprende el agente encapsulado en un portador de un tamaño específico,

denominado a continuación en el presente documento “agente encapsulado.” El término “agente encapsulado” incluye un agente que se encapsula dentro de un portador tal como, por ejemplo, un liposoma.

5 En una realización adicional, la formulación comprende el agente embebido en un portador de un tamaño específico denominado a continuación en el presente documento “agente embebido.” El término “agente embebido” incluye un agente que se embebe, encierra y/o adsorbe dentro de un portador, se dispersa en la matriz de portador, se adsorbe o une sobre la superficie del portador, o en combinación de cualquiera de estas formas. El portador incluye muchas formas, tales como, por ejemplo, micropartículas, nanopartículas, nanoesferas, microesferas, microcápsulas o nanocápsulas (por ejemplo, M. Donbrow en: Microencapsulation and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy, CRC Press, Boca Raton, FL, 347, 1991). El término portador incluye preparaciones tanto poliméricas como no poliméricas. Además, también pueden usarse estabilizadores y compuestos de suspensión con las formulaciones de agente encapsulado y/o embebido.

15 En una realización adicional, la formulación comprende un agente en forma particulada, denominado a continuación en el presente documento “agente particulado.” Una forma de dosificación de “agente particulado” incluye cualquier forma particulada dispersada o suspendida insoluble del agente de una dimensión específica que no está encapsulada, atrapada o adsorbida dentro de un portador. Las formulaciones de agente particulado incluyen, pero no se limitan a, coloides dispersados o suspendidos, agregados, flóculos, sales insolubles, complejos insolubles y cadenas poliméricas de un agente. Tales agentes particulados también pueden ser agregados del agente polimerizado. Normalmente, “insoluble” se refiere a una solubilidad de una (1) parte de un agente en más de diez mil (10.000) partes de un disolvente; siendo el disolvente, en este caso, sangre (agua). Además, pueden usarse agentes de suspensión y estabilizadores con la formulación de agente particulado.

25 La formulación de la presente invención, por ejemplo, el agente encapsulado, el agente embebido o el agente particulado, suprime la respuesta inflamatoria reduciendo y/o inactivando de manera transitoria células que son desencadenantes importantes en la respuesta inflamatoria, concretamente macrófagos y/o monocitos. El agente encapsulado, el agente embebido y/o el agente particulado se captan, mediante fagocitosis, muy eficazmente por los macrófagos y monocitos, y en cierto grado por otras células con actividad fagocítica tales como los fibroblastos. En cambio, las células no fagocíticas no pueden captar la formulación debido a la gran dimensión y/u otras propiedades fisicoquímicas de la formulación.

35 Una vez dentro de los macrófagos, se altera la estructura del agente encapsulado, embebido o particulado (por ejemplo, liposoma, micropartícula, nanopartícula, agregados) y el agente se libera por vía intracelular, inhibiendo de ese modo la actividad de, desactivando y/o eliminando los monocitos/macrófagos. Puesto que los macrófagos y monocitos, en su estado normal, se reclutan hacia el área infartada y promueven el daño miocárdico más allá del producido por la isquemia sola, la inhibición y/o reducción de monocitos/macrófagos atenúa el daño miocárdico. Tras captarse por los monocitos/macrófagos, el agente tiene una actividad inhibitoria sostenida sobre los monocitos/macrófagos. Esta actividad sostenida es suficiente para modular el daño miocárdico. Por tanto, no se requiere la liberación prolongada del agente con el fin de mantener la inhibición. Por consiguiente, el método de tratar el infarto de miocardio inhibiendo monocitos/macrófagos, tal como, por ejemplo, mediante el uso de un agente encapsulado, un agente embebido o un agente particulado, es preferiblemente una terapia sistémica, en que la formulación selecciona como diana los monocitos y macrófagos circulantes.

45 Además, la formulación de la presente invención no sólo retiene el agente durante un tiempo suficiente de modo que el agente no se libere en los fluidos corporales, sino que también descarga eficazmente el fármaco dentro de la célula diana. El agente se formula para dar un agente encapsulado/embebido o un agente particulado porque, en muchos casos, el agente en su forma libre es ineficaz puesto que no selecciona como diana específicamente células fagocíticas. El hecho de encapsular/embeber el agente en partículas portadoras de un tamaño específico o de formular el agente para dar agentes particulados, por ejemplo agregados, de un tamaño específico, permite que las formulaciones se capten principalmente y de manera eficaz por macrófagos y monocitos a través de fagocitosis.

50 La formulación, que comprende un agente encapsulado, agente embebido o un agente particulado, se dimensiona específicamente para que la capten los macrófago y monocitos. El agente encapsulado, embebido o particulado está preferiblemente en el intervalo de tamaño de 0,03-1,0 micrómetros. Sin embargo, dependiendo del tipo de agente y/o del portador usado, los intervalos más preferidos incluyen, pero no se limitan a, 0,1-0,5 micrómetros, 0,1-0,3 micrómetros y de 0,1 a 0,18 micrómetros. Sin embargo, estos intervalos son meramente ejemplos y en la técnica se reconocerán otros intervalos de tamaño adecuados para captación a través de fagocitosis y pueden usarse sin apartarse del espíritu o alcance de la invención.

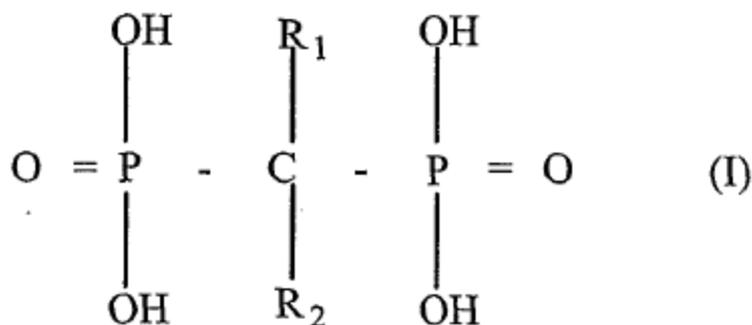
60 El agente incluye cualquier sustancia que, una vez liberada dentro de los macrófagos/monocitos seleccionados como diana, inhibe y/o destruye los macrófagos y monocitos para minimizar la necrosis miocárdica y reducir el área infartada. Según la presente invención, el agente comprende un inhibidor, desactivador, toxina, sustancia de detención y/o sustancia citostática/citotóxica intracelular. Es decir, el agente incluye cualquier compuesto que, una vez liberado dentro de los macrófagos/monocitos seleccionados como diana, inhibe, destruye, detiene, modifica y/o altera los macrófagos y monocitos. El agente incluye no sólo cadenas monoméricas, sino también poliméricas del agente. Una clase preferida de agentes son los bifosfonatos. Los bifosfonatos libres, debido a su afinidad por el

hueso y debido a su incapacidad para atravesar las membranas celulares, prácticamente no tienen ningún efecto sobre la respuesta inflamatoria sistémica. En cambio, los bifosfonatos, cuando se encapsulan en liposomas de un tamaño específico, se embeben en micropartículas o nanopartículas de dimensiones específicas o cuando están en una formulación particulada, tal como, por ejemplo, en agregados de un tamaño específico, se dirigen específicamente a, y se captan eficazmente mediante fagocitosis por, los macrófagos y monocitos. En cambio, las células no fagocíticas no pueden captar los bifosfonatos encapsulados, bifosfonatos embebidos y bifosfonatos particulados.

Aunque la siguiente descripción detallada a menudo se refiere a una realización preferida de la presente invención, es decir, al uso de un bifosfonato encapsulado, específicamente, alendronato liposómico, el médico experto en la técnica entenderá que puede emplearse cualquier inhibidor, desactivador, toxina, agente de detención o agente citostático/citotóxico intracelular, que se formula para dar un tamaño específico de manera que puede entrar principalmente en una célula a través de fagocitosis, que puede reducir y/o inactivar eficazmente monocitos/macrófagos para minimizar la necrosis miocárdica y mejorar la reparación cardíaca tras el infarto de miocardio agudo, sin apartarse del espíritu o alcance de la invención. Por ejemplo, el galio y el oro son inactivadores de monocitos y macrófagos y pueden usarse como agente de la presente invención para tratar el infarto de miocardio agudo. Otros agentes útiles en la presente invención incluyen, pero no se limitan a, selenio, gadolinio, sílice, mitramicina, paclitaxel, sirolimús y everolimús. Cualquier inhibidor intracelular puede formularse como un agente encapsulado/embebido o un agente particulado de un tamaño específico. Además, puede formularse una combinación de dos o más inhibidores para dar una forma de dosificación para un efecto mejorado.

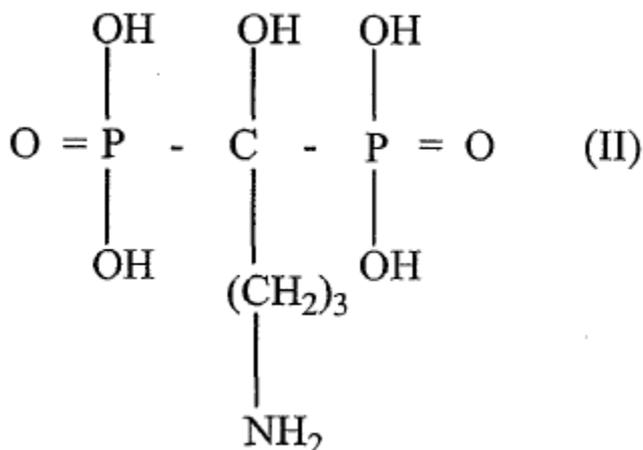
Según la presente invención, una clase preferida de agentes son los bifosfonatos. Los bifosfonatos (denominados anteriormente difosfonatos) son compuestos caracterizados por dos enlaces C-P. Si los dos enlaces están ubicados en el mismo átomo de carbono (P-C-P) se denominan bifosfonatos germinales. Los bifosfonatos son análogos del pirofosfato inorgánico endógeno que está implicado en la regulación de la formación y resorción óseas. El término bifosfonatos se usa de manera general para bifosfonatos germinales y no germinales. Los bifosfonatos pueden formar en ocasiones cadenas poliméricas. Los bifosfonatos actúan sobre el hueso debido a su afinidad por el mineral óseo y también porque son potentes inhibidores de la resorción ósea y la calcificación ectópica. Los bifosfonatos se han usado en clínica principalmente como (a) agentes antiosteolíticos en pacientes con destrucción ósea aumentada, especialmente con enfermedad de Paget, enfermedad ósea tumoral y osteoporosis; (b) marcadores esqueléticos para fines de diagnóstico (unidos a ^{99m}Tc); (c) inhibidores de calcificación en pacientes con calcificación ectópica y osificación, y (d) agentes antisarro añadidos a la pasta dentífrica (Fleisch, H., 1997, en: Bisphosphonates in bone disease. Parthenon Publishing Grupo Inc., 184-186). Además, al ser altamente hidrófilos y estar cargados negativamente, los bifosfonatos en su forma libre son casi completamente incapaces de atravesar las membranas celulares.

Los bifosfonatos, cuando se encapsulan en liposomas o se embeben en partículas portadoras de dimensiones específicas, o cuando están en una forma de dosificación particulada, tal como, por ejemplo, en agregados de un tamaño específico, pueden usarse para el tratamiento del infarto de miocardio. El término bifosfonato, tal como se usa en el presente documento, indica tanto bifosfonatos germinales como no germinales. Un agente preferido, un bifosfonato, tiene la siguiente fórmula (I):



en la que R_1 es H, OH o un átomo de halógeno; y R_2 es halógeno; alquilo $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ o alqueno $\text{C}_2\text{-C}_{10}$ lineal o ramificado sustituido opcionalmente con heteroaril o heterocicliil-alquilamino $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ o cicloalquilamino $\text{C}_3\text{-C}_8$ en los que el amino puede ser primario, secundario o terciario; $-\text{NH}_Y$ en el que Y es hidrógeno, cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_8$, arilo o heteroarilo; o R_2 es $-\text{SZ}$ en el que Z es fenilo o piridinilo sustituido con cloro.

Un ejemplo de un agente preferido es el bifosfonato, alendronato, que tiene la siguiente fórmula (II):



Según la invención también se prefieren bifosfonatos adicionales que tienen actividades similares a las del alendronato. Tales bifosfonatos pueden seleccionarse partiendo de la base de su capacidad para imitar la actividad biológica del alendronato. Esto incluye, por ejemplo: actividad *in vitro* en la inhibición de la actividad de células fagocíticas, por ejemplo macrófagos y fibroblastos; inhibición de secreción de IL-1 y/o IL-6 y/o TNF- α a partir de macrófagos; y actividad *in vivo*, por ejemplo la capacidad de las formulaciones sometidas a prueba para reducir o desactivar monocitos en sangre en un modelo de animal o en seres humanos o para tratar el infarto de miocardio y reducir la zona de infarto en un modelo de animal experimental tal como, por ejemplo, el modelo de infarto de miocardio agudo de conejo descrito en el ejemplo 1 más adelante.

Los bifosfonatos adicionales aplicables en la presente invención, incluyen, pero no se limitan a, clodronato, tiludronato, ácido 3-(N,N-dimetilamino)-1-hidroxiopropano-1,1-difosfónico, por ejemplo dimetil-APD; ácido 1-hidroxi-etiliden-1,1-bifosfónico, por ejemplo etidronato; ácido 1-hidroxi-3(metilpentilamino)-propiliden-bifosfónico, (ácido ibándrónico), por ejemplo ibandronato; ácido 6-amino-1-hidroxihexano-1,1-difosfónico, por ejemplo amino-hexil-BP; ácido 3-(N-metil-N-pentilamino)-1-hidroxiopropano-1,1-difosfónico, por ejemplo metil-pentil-APD; ácido 1-hidroxi-2-(imidazol-1-il)etano-1,1-difosfónico, por ejemplo ácido zoledrónico; ácido 1-hidroxi-2-(3-piridil)etano-1,1-difosfónico (ácido risedrónico), por ejemplo risedronato; ácido 3-[N-(2-feniltioetil)-N-metilamino]-1-hidroxiopropano-1,1-bifosfónico; ácido 1-hidroxi-3-(pirrolidin-1-il)propano-1,1-bifosfónico, ácido 1-(N-fenilaminotiocarbonil)metano-1,1-difosfónico, por ejemplo FR 78844 (Fujisawa); éster tetraetilico del ácido 5-benzoil-3,4-dihidro-2H-pirazol-3,3-difosfónico, por ejemplo U81581 (Upjohn); y ácido 1-hidroxi-2-(imidazo[1,2-a]piridin-3-il)etano-1,1-difosfónico, por ejemplo YM 529.

El término "cantidad eficaz" indica una cantidad de la formulación que es eficaz para lograr el resultado terapéutico deseado, concretamente el tratamiento del infarto de miocardio para minimizar la necrosis miocárdica y mejorar la reparación cardíaca. La disminución en el número y la actividad de macrófagos y monocitos activados reduce la zona de infarto y mejora la remodelación. La cantidad eficaz puede depender de varios factores incluyendo, pero sin limitarse a: el peso y el sexo del individuo tratado; el modo de administración de la formulación (concretamente si se administra por vía sistémica o directamente al sitio); el régimen terapéutico (por ejemplo si la formulación se administra una vez al día, varias veces al día, una vez cada pocos días o en una dosis única); indicadores clínicos de inflamación; factores clínicos que influyen en la velocidad de desarrollo de la necrosis miocárdica tales como diabetes, tabaquismo, hipercolesterolemia, estados proinflamatorios, enfermedades renales; y de la forma de dosificación de la composición. El experto, mediante experimentación de rutina, no debe tener dificultades sustanciales para determinar la cantidad eficaz en cada caso.

La formulación usada según la invención puede formularse para dar composiciones farmacéuticas mediante cualquiera de las técnicas convencionales conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, Alfonso, G. *et al.*, 1995, en: *The Science and Practice of Pharmacy*, Mack Publishing, Easton PA, 19^a ed.). Las formulaciones pueden prepararse en formas adecuadas para inyección, instilación o implantación en el organismo, tales como, por ejemplo, suspensiones de las nanopartículas. Además, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden formularse con aditivos farmacéuticos apropiados para formas de dosificación parenteral. La forma de administración preferida en cada caso depende del modo de administración deseado, que es habitualmente el que sea más compatible fisiológicamente con el estado del paciente y con otros tratamientos terapéuticos que el paciente recibe actualmente.

Las formulaciones pueden administrarse mediante cualquier vía que transporte eficazmente la formulación al sitio de acción apropiado o deseable. Los modos de administración preferidos incluyen vía intravenosa (i.v.) y vía intraarterial (i.a.) (particularmente adecuada para la administración mediante una vía). Otros modos adecuados de administración incluyen vía intramuscular (i.m.), vía subcutánea (s.c.) y vía intraperitoneal (i.p.). Una administración de este tipo pueden ser infusiones o inyecciones en bolo. Otro modo de administración puede ser mediante administración perivascular. La formulación puede administrarse directamente o tras dilución. Según la invención

también pueden usarse combinaciones de cualquiera de las vías de administración anteriores.

La dosificación de la formulación que va a usarse también depende de la actividad específica del agente seleccionado, el modo de administración (por ejemplo administración sistémica o administración local), la forma de la formulación (por ejemplo agente encapsulado, agente embebido o agente particulado), el tamaño de la formulación, y otros factores tal como se conocen en sí mismos. En una realización de la invención, el agente se encapsula en liposomas. Los liposomas pueden prepararse mediante cualquiera de los métodos conocidos en la técnica (en cuanto a los métodos de preparación de liposomas, véase Mönkkönen, J. *et al.*, 1994, *J. Drug Target*, 2:299-308, y Mönkkönen, J. *et al.*, 1993, *Calcif. Tissue Int.*, 53:139-145). Los liposomas pueden cargarse positivamente, ser neutros o cargarse negativamente, prefiriéndose actualmente los liposomas cargados negativamente, y pueden ser unilamelares o multilamelares. Los liposomas adecuados según la invención son preferiblemente liposomas no tóxicos tales como, por ejemplo, los preparados a partir de fosfatidilcolina, fosfoglicerol y colesterol, por ejemplo tal como se describe más adelante. El diámetro de los liposomas usados preferiblemente oscila entre 100 y 500 nm. Sin embargo, también pueden usarse otros intervalos de tamaño adecuados para la captación por macrófago/monocitos.

En una realización adicional, el agente puede embeberse en nanopartículas. Las nanopartículas son partículas poliméricas no esféricas o esféricas de 30-1000 nm de diámetro. El agente puede embeberse en la nanopartícula, dispersarse de manera uniforme o no uniforme en la matriz polimérica, adsorberse sobre la superficie, o en combinación de cualquiera de estas formas. La naturaleza submicrométrica de la forma composicional es la que la hace eficaz en aplicaciones terapéuticas. El tamaño submicrométrico facilita la captación específica por células fagocíticas tales como monocitos y macrófagos. En una realización preferida, el polímero usado para fabricar nanopartículas es el polímero biocompatible y biodegradable, poli(DL-lactida-co-glicolida) (PLGA). Sin embargo, los polímeros adicionales que pueden usarse para fabricar las nanopartículas incluyen, pero no se limitan a, PLA (poli(ácido láctico)) y sus copolímeros, polianhídridos, polialquil-cianoacrilatos (tales como poliisobutilcianoacrilato), polietilenglicoles, poli(óxidos de etileno) y sus derivados, quitosano, albúmina, gelatina y similares. El tamaño de la nanopartícula usada para encapsular el agente depende del método de preparación y del modo de administración. Preferiblemente, el tamaño de las nanopartículas oscila entre 70-500 nm. Sin embargo, dependiendo de las técnicas de preparación y esterilización, los intervalos más preferidos incluyen, pero no se limitan a, 100-300 nm y 100-180 nm.

El portador o diluyente farmacéutico usado en la formulación de la invención puede ser uno cualquiera de los portadores sólidos o líquidos o semisólidos convencionales conocidos en la técnica. Un portador sólido, por ejemplo, puede ser lactosa, sacarosa, gelatinas y otros hidratos de carbono. Un portador líquido, por ejemplo, puede ser aceite biocompatible adecuado para inyección tal como aceite de cacahuete, agua o mezclas de líquidos biocompatibles, o un portador viscoso biocompatible tal como un gel de gelatina o polietileno.

La composición de la formulación usada para inyección puede seleccionarse de emulsiones, suspensiones, disoluciones coloidales que contienen aditivos adecuados, y composiciones adecuadas adicionales conocidas por el experto en la técnica.

Según una realización preferida de la invención, la formulación se administra durante un infarto de miocardio agudo o lo antes posible tras producirse el infarto de miocardio agudo. Sin embargo, para fines preventivos, la formulación puede administrarse antes del comienzo de un infarto de miocardio a aquellos individuos que tienen alto riesgo de infarto de miocardio. Además, la formulación también puede administrarse antes o después de la reperfusión para atenuar significativamente la lesión miocárdica. La formulación también puede administrarse antes de o durante un procedimiento en el que es probable que se produzca un infarto de miocardio agudo. Por ejemplo, la formulación puede administrarse antes de una angioplastia coronaria transluminal percutánea (PTCA). Además, la formulación puede administrarse al individuo o bien sola o bien en combinación con otros tipos de tratamientos.

En una realización adicional, la formulación puede administrarse a pacientes en riesgo de infarto de miocardio inminente, a aquellos con síndromes coronarios inestables o a aquellos con isquemia miocárdica.

En conclusión, la modulación de la respuesta inflamatoria seleccionando como diana específicamente monocitos y macrófagos puede reducir la necrosis y mejorar la función y la reparación cardiaca tras el infarto de miocardio agudo.

Ejemplo(s)

Los siguientes ejemplos tal como se exponen en el presente documento tienen por objeto ilustrar y ejemplificar los diversos aspectos de llevar a cabo la presente invención y no se pretende que limiten la invención en modo alguno.

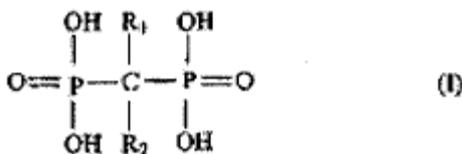
Ejemplo 1: Efecto del alendronato liposómico sobre la zona de infarto

Se estudiaron los efectos del tratamiento con bifosfonatos encapsulados sobre la zona de infarto en un modelo de AMI de conejo. Se alimentaron ocho conejos macho blancos de Nueva Zelanda, de 2,5-3,5 kg de peso corporal, con comida normal y agua a voluntad. Se anestesiaron los conejos mediante ketamina/xilazina (35 mg/kg; 5 mg/kg) e

- isoflurano. Se realizó el experimento con apoyo respiratorio facilitado mediante intubación y ventilación mecánica con isoflurano en oxígeno en equilibrio, y ecocardiograma (ECG) y monitorización de la tensión arterial (catéter en arteria de la oreja) continuos. Se administró aleatoriamente a los conejos solución salina (control) o alendronato liposómico (3 mg/kg, i.v.). Se realizó toracotomía a través del 4^a espacio intercostal izquierdo, seguido por pericardiotomía y creación de una cuna pericárdica. Se identificó la arteria coronaria principal izquierda y se rodeó una gran rama mediante un hilo de sutura de seda 5-0 y un lazo. Después, se apretó el lazo durante 30 minutos. Se verificó la isquemia mediante cambios en el ECG (elevación del segmento ST-T), cambios de la coloración del segmento e hipocinesia. Tras treinta minutos, se liberó el lazo y se confirmó la reanudación del flujo de sangre. Se dejó el hilo de sutura en su sitio, liberado y se cerró la cavidad torácica en capas. Se administró Buprenex a los conejos para analgesia durante 2-3 días adicionales. Según el sacrificio con pentotal, se sacrificaron los conejos tras 7 días y se recogieron los corazones. Se administró solución salina mediante perfusión en las arterias coronarias a través de la aorta ascendente, seguido por apretar el hilo de sutura sobre la arteria coronaria ocluida previamente y perfusión de las arterias coronarias con disolución de azul de Evans al 0,5% (Sigma). Entonces se congelaron los corazones a -20°C durante 24 horas y se cortaron en secciones transversales con una separación de 2 mm. Se incubaron los cortes de los corazones durante 30 minutos en cloruro de tritrazolio (TTC, 1%, Sigma), se fijaron en formalina tamponada natural al 10% y entonces se fotografiaron y se procesaron mediante planimetría digital (Photoshop). El área del ventrículo izquierdo no teñida por azul de Evans se definió como el área en riesgo y el área no teñida por TTC (blanco) se definió como el área de infarto.
- En la figura 1 se muestran los resultados de alendronato liposómico sobre la zona o área de infarto final. Los resultados se presentan como el porcentaje de la zona infartada con respecto al área en riesgo. Tal como se ilustra, el área o zona de infarto fue del $42\pm 5,5\%$ en el grupo control y del $29,5\pm 6\%$ en el grupo tratado con alendronato liposómico. Los datos en la figura 1 se expresan como media \pm DE, $n=4/\text{grupo}$, $p<0,05$. Por consiguiente, el alendronato liposómico fue eficaz para reducir la zona de infarto. No se observaron efectos adversos en el grupo de tratamiento.
- En la figura 2 se ilustra la variación en la morfometría miocárdica. Los conejos control tienen una morfometría miocárdica distorsionada, mientras que los conejos tratados con alendronato liposómico presentan una morfometría más normal.
- Además, también se determinó el efecto del alendronato liposómico sobre monocitos en sangre. La supresión de los monocitos se determinó usando análisis de FACS. A las 48 horas tras la inyección con alendronato liposómico, la población de monocitos en sangre se redujo en un 75-95%.
- De manera similar, la figura 3 ilustra la reducción en la infiltración de macrófagos en conejos tratados con alendronato liposómico. La reducción en la infiltración de macrófagos se determinó mediante inmunotinción para macrófagos RAM11+ en secciones representativas de corazones de conejo del grupo control y de los tratados con alendronato liposómico.
- El contenido de todos los artículos, libros, manuales de referencia y resúmenes publicados tal como se citan en el presente documento, se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad para describir más completamente el estado de la técnica a la que pertenece la invención.
- Puesto que pueden realizarse diversos cambios en el contenido descrito anteriormente sin apartarse del alcance y espíritu de la presente invención, se pretende que todo el contenido de la descripción anterior, o definido en las reivindicaciones adjuntas, se interprete como descriptivo e ilustrativo de la presente invención. Son posibles muchas modificaciones y variaciones de la presente invención a la luz de las enseñanzas anteriores.

REIVINDICACIONES

1. Formulación para su uso en un tratamiento de un infarto de miocardio agudo, en la que la formulación reduce una zona de infarto, minimizando de ese modo el daño tras el infarto de miocardio agudo, en la que la formulación comprende un agente encapsulado, un agente embebido o un agente particulado que tiene un tamaño en el intervalo de 0,03 a 1,0 μm , en la que el agente, una vez liberado dentro de los macrófagos y/o monocitos seleccionados como diana, inhibe y/o destruye los macrófagos y/o monocitos, en la que el agente se selecciona del grupo que consiste en galio, oro, selenio, gadolinio, sílice, mitramicina, paclitaxel, sirolimús, everolimús, un bifosfonato y combinaciones de dos o más de los mismos.
2. Formulación según la reivindicación 1, en la que la formulación reduce monocitos en sangre o macrófagos tisulares.
3. Formulación según la reivindicación 1 ó 2, en la que el tamaño del agente encapsulado, el agente embebido o el agente particulado es de desde 0,1 hasta 0,5 μm .
4. Formulación según la reivindicación 1, en la que la formulación puede entrar principalmente en la célula a través de fagocitosis.
5. Formulación según la reivindicación 1, en la que el agente es galio.
6. Formulación según la reivindicación 1, en la que los agentes particulados se seleccionan del grupo que consiste en flóculos, coloides, cadenas poliméricas, sales insolubles y complejos insolubles.
7. Formulación según la reivindicación 1, en la que la inhibición de dichos monocitos o macrófagos se produce a través de la fagocitosis de la formulación.
8. Formulación según la reivindicación 2, en la que la reducción de dichos monocitos o macrófagos se produce a través de la fagocitosis de la formulación.
9. Formulación para su uso en un tratamiento de un infarto de miocardio agudo seguido por necrosis miocárdica para minimizar el daño que resulta de la necrosis, en la que la formulación comprende un bifosfonato embebido, un bifosfonato particulado o un bifosfonato encapsulado que tiene un tamaño en el intervalo de 0,03 a 1,0 μm , y está embebida en un portador seleccionado del grupo que consiste en micropartículas, nanopartículas, nanoesferas, microesferas, liposomas, microcápsulas o nanocápsulas.
10. Formulación según la reivindicación 9, en la que los agentes particulados se seleccionan del grupo que consiste en flóculos, coloides, cadenas poliméricas, sales insolubles y complejos insolubles.
11. Formulación según la reivindicación 9, en la que el bifosfonato se selecciona del grupo que consiste en clodronato, etidronato, tiludronato, pamidronato, alendronato y risendronato.
12. Formulación según la reivindicación 9, en la que la formulación inhibe monocitos en sangre o macrófagos tisulares.
13. Formulación según la reivindicación 9, en la que la formulación reduce monocitos en sangre o macrófagos tisulares.
14. Formulación según la reivindicación 12, en la que la inhibición de dichos monocitos o macrófagos se produce a través de la fagocitosis de la formulación.
15. Formulación según la reivindicación 13, en la que la reducción de dichos monocitos o macrófagos se produce a través de la fagocitosis de la formulación.
16. Formulación según la reivindicación 9, en la que dicho bifosfonato tiene una fórmula (I):



en la que R₁ es H, OH o un grupo halógeno; y

5 R₂ es halógeno; alquilo C₁-C₁₀ o alqueno C₂-C₁₀ lineal o ramificado, sustituido opcionalmente con heteroaril o heterociclil-alquilamino C₁-C₁₀ o cicloalquilamino C₃-C₈, en los que el amino puede ser amina primaria, secundaria o terciaria; -NHY en el que Y es hidrógeno, cicloalquilo C₃-C₈, arilo o heteroarilo; o -SZ en el que Z es fenilo o piridinilo sustituido con cloro.

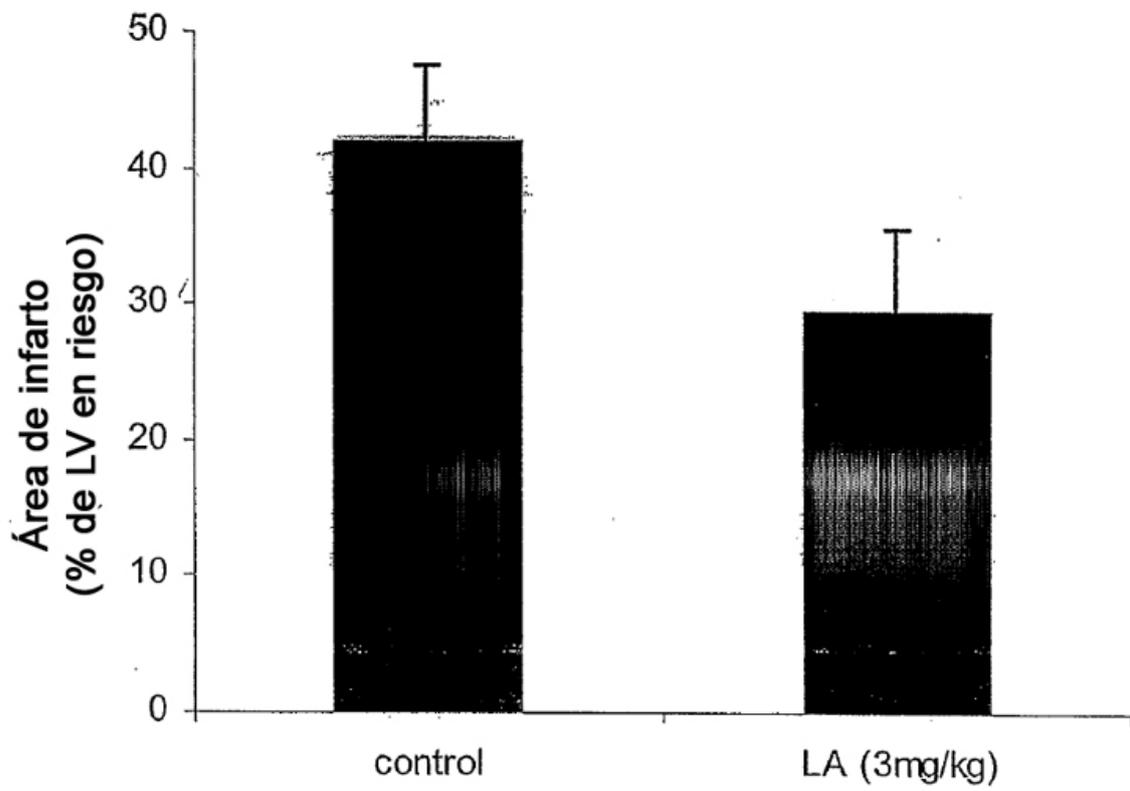


FIG. 1



Control



LA 3 mg/kg

FIG. 2

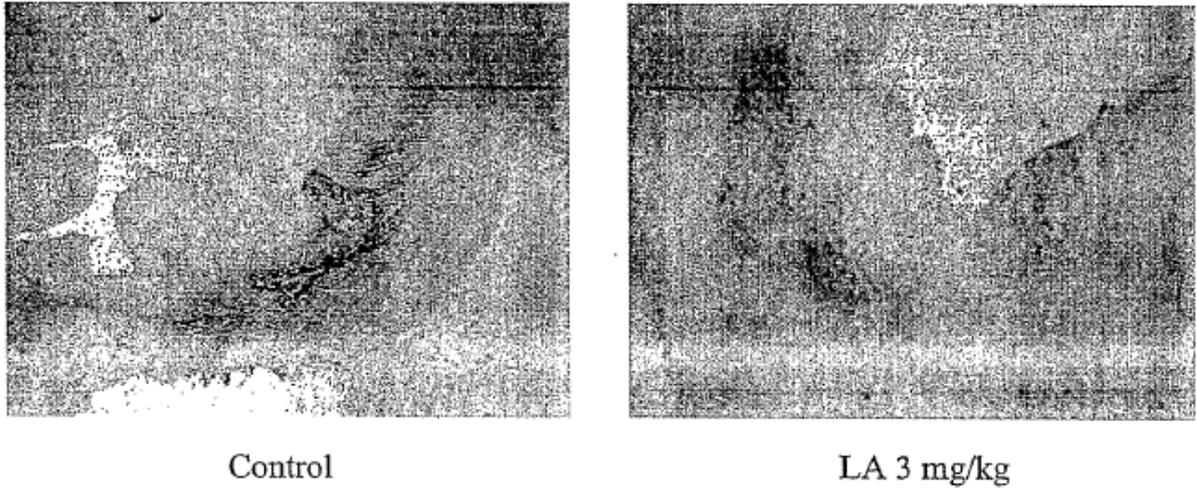


FIG. 3