

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 722 723**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/192** (2006.01)  
**A61K 31/4192** (2006.01)  
**A61K 31/4425** (2006.01)  
**A61K 31/196** (2006.01)  
**A61K 31/42** (2006.01)  
**A61K 31/5377** (2006.01)  
**A61P 29/00** (2006.01)  
**A61P 27/02** (2006.01)  
**A61P 27/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.11.2011 PCT/AU2011/001455**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **31.05.2012 WO12068612**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.11.2011 E 11843788 (8)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.01.2019 EP 2642989**

54 Título: **Métodos para tratar enfermedades oculares asociadas con inflamación y proliferación vascular**

30 Prioridad:  
**24.11.2010 AU 2010905197**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**16.08.2019**

73 Titular/es:  
**OCCURX PTY LTD (100.0%)  
Level 9, 31 Queen Street  
Melbourne, VIC 3000, AU**

72 Inventor/es:  
**KELLY, DARREN JAMES y  
STAPLETON, DAVID**

74 Agente/Representante:  
**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 722 723 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

Métodos para tratar enfermedades oculares asociadas con inflamación y proliferación vascular

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere de forma amplia a métodos para tratar enfermedades oculares asociadas con inflamación y/o proliferación vascular que incluyen retinopatía diabética. Más particularmente, la invención se refiere a un método para tratar enfermedades oculares con análogos del agente antifibrótico, Tranilast, así como a un estuche de ensayo para tratar estas enfermedades oculares.

**Antecedentes de la invención**

10 Las enfermedades oculares que implican inflamación y/o proliferación vascular como elemento(s) causal(es), habitualmente, pero no siempre, se refieren a los segmentos anterior y posterior del ojo. Por ejemplo, los trastornos oculares que tienen una etiología en la inflamación y/o proliferación vascular podrían ser edema corneal, uveítis anterior y posterior, pterigión, enfermedades corneales que están provocadas por infecciones de microbios o microorganismos como bacterias, virus, hongos, amebas y parásitos, ojo seco, conjuntivitis, exudación inducida por alergia y láser, degeneración macular no relacionada con la edad, edema macular, retinopatía diabética (DR),  
15 degeneración macular relacionada con la edad (Kim *et al.* 2001; AM Jousseen *et al.* 2004; SC Pflugfelder 2004) y enfermedad ocular de von Hippel-Lindau que está caracterizada por una proliferación vascular fina en la retina.

Una de las enfermedades oculares anteriormente mencionadas, la DR, es una complicación común de la diabetes y continúa siendo una de las causas principales de pérdida de visión (Cheung, Fung *et al.* 2005; Santos, Tschiedel *et al.* 2005). La pérdida de visión en la DR se desarrolla mediante alteraciones lentas y progresivas de la microvasculatura retinal (pericitos y células endoteliales) que conducen a una descomposición de la barrera retinal sanguínea, angiogénesis patológica y cicatrización. Basándose en el alcance de las anomalías vasculares, la DR puede ser ampliamente clasificada en DR no proliferativa (NPDR) y DR proliferativa (PDR) (Klein, Klein *et al.* 2004). En la NPDR, la hiperglucemia induce un espesamiento de la membrana basal del endotelio corneal, apoptosis o "goteo" de pericitos, microaneurismas y pérdida vascular. El bloqueo de las capilaridades retinales provoca hipoxia localizada, que aumenta la producción de factores de crecimiento angiogénicos. En algunos microvasos, las células endoteliales se hacen apoptóticas, dando lugar a capilaridades acelulares (desprovistas de pericitos y células endoteliales), cierre capilar y zonas de no perfusión retinal. Los leucocitos adherentes pueden contribuir también a la lesión provocando una oclusión capilar retinal (Jousseen, Poulaki *et al.* 2004). Se desarrollan hemorragias múltiples, exudados blandos, exudados algodonosos, anomalías microvasculares intrarretinales y granulación venosa y desarrollo de bucles. Las zonas de tejidos aumentadas de no perfusión de tejidos estimulan la producción de factores angiogénicos que conducen a la proliferación de vasos, que es la característica distintiva de la PDR. La angiogénesis retinal puede estar acompañada de fibrosis dando lugar a una cresta fibrovascular, que se extiende en la cavidad vítrea de la superficie de la retina. La contracción de la cresta fibrovascular provoca desprendimiento retinal y pérdida de visión y ceguera (Watkins 2003).

35 La patogenia de la DR no está completamente comprendida. Sin embargo, los cambios metabólicos y bioquímicos, como un flujo aumentado de glucosa a través de la trayectoria de polioles, la activación de la proteína quinasa C, el deterioro oxidativo y las formaciones de productos finales de glicación avanzada y aumentada son factores contributivos en el desarrollo de la DR (Cheung, Fung *et al.* 2005). Las evidencias acumuladas indican que el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) desempeña una función crítica en la angiogénesis (Sarlos, Rizkalla *et al.* 2003) en la DR, mientras que la leucocitosis mediada por moléculas de adhesión intercelular (ICAM-1) da lugar a un deterioro endotelial secundario (Jousseen, Poulaki *et al.* 2002; Khalfaoui, Lizard *et al.* 2009). Recientemente, ha sido reconocida también la DR como una enfermedad inflamatoria crónica (Adamis 2002; Jousseen, Poulaki *et al.* 2004). Con estas nociones, hay estudios que han demostrado que una terapia antiinflamatoria evita las características histopatológicas clásicas de la DR: formación capilar acelular, desarrollo de hemorragias retinales, progreso de microaneurismas y pérdida de pericitos (Adamis 2002; Jousseen, Poulaki *et al.* 2002).

El tratamiento actual de la DR es mediante fotocoagulación láser, un procedimiento que destruye vasos angiogénicos y el tejido hipóxico circundante (Aiello 2003). Aunque es beneficiosa, la fotocoagulación con láser puede destruir retina sana y la enfermedad continúa a pesar del tratamiento invasivo. Por lo tanto, han sido investigadas terapias menos invasivas, con un enfoque particular sobre la inhibición de moléculas perjudiciales como VEGF e ICAM-1 (Arita, Hata *et al.*; Sarlos, Rizkalla *et al.* 2003; Khalfaoui, Lizard *et al.* 2009). No obstante, continúa habiendo una necesidad de otras terapias para tratar enfermedades oculares asociadas con la inflamación y/o proliferación vascular, como retinopatía diabética, así como edema corneal, uveítis anterior y posterior, pterigión, enfermedades corneales que están provocadas por infecciones de microbios o microorganismos como bacterias, virus, hongos, amebas y parásitos, ojo seco, conjuntivitis, exudación inducida por alergia y láser, degeneración macular no relacionada con la edad, edema macular, degeneración macular relacionada con la edad y enfermedad ocular de von Hippel-Lindau.

El documento EP 0974352 A1 describe fármacos que inhiben el progreso del pterigión y la recaída postoperatoria del mismo.

5 El documento US 2007/0254055 A1 describe métodos y composiciones para inhibir la proliferación de células de adenocarcinoma de colon humano, reducción de moléculas proinflamatorias, moléculas de adhesión y proliferación de células de músculos lisos vasculares y para aumentar la producción de NO.

El documento WO 97/29744 describe un inhibidor de neovascularización que contiene como ingrediente activo ácido N-(3,4-dimetoxicinamoil)-antranílico, que tiene las actividades de rebajar el crecimiento y la migración de las células endoteliales capilares humanas.

10 Zammit S C *et al*, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 19, (2009), 7003-7006 divulgan la evaluación y optimización de la actividad antifibrótica de antranilatos de cinamoilo.

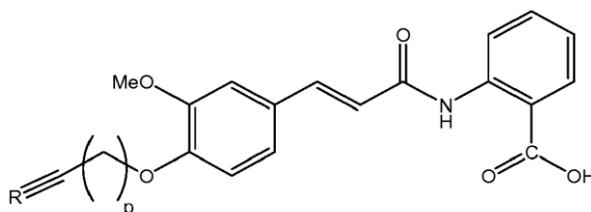
El documento WO 2008/003141 A1 describe compuestos de antranilato de cinamoilo sustituido que exhiben actividad antifibrótica, con el estado de que el compuesto no sea tranilast.

El documento WO 2009/079692 A1 describe compuestos halogenados con los sustituyentes que se describen en la memoria descriptiva. Los compuestos pueden ser útiles como agentes antifibróticos.

15 La referencia a cualquier técnica anterior en esta memoria descriptiva no es ni debe ser considerada como un reconocimiento o cualquier forma de sugerencia de que la técnica anterior citada forme parte del conocimiento general común en Australia.

### Sumario de la invención

En un aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula 4



Fórmula 4

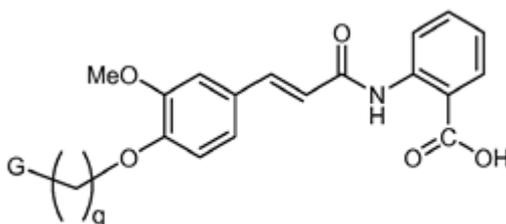
para ser usado en el tratamiento de una enfermedad ocular asociada con inflamación y/o proliferación vascular en un sujeto;

25 en que la enfermedad ocular se selecciona entre el grupo que comprende retinopatía diabética, edema corneal, uveítis anterior y posterior, pterigión, enfermedades corneales, ojo seco, conjuntivitis, exudación inducida por alergia y láser, degeneración macular no relacionada con la edad, edema macular, degeneración macular relacionada con la edad y enfermedad ocular de von Hippel-Lindau;

en la que p es un número entero entre 1 y 10; y R se selecciona entre el grupo que consiste en H y alquilo de C<sub>1</sub> a C<sub>10</sub>;

30 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula 6



Fórmula 6

para ser usado en el tratamiento de una enfermedad ocular asociada con inflamación y/o proliferación vascular en

un sujeto;

en el que la enfermedad ocular se selecciona entre el grupo que comprende retinopatía diabética, edema corneal, uveítis anterior y posterior, pterigión, enfermedades corneales, ojo seco, conjuntivitis, exudación inducida por alergia y láser, degeneración macular no relacionada con la edad, edema macular, degeneración macular relacionada con la edad y enfermedad ocular de von Hippel-Lindau;

5

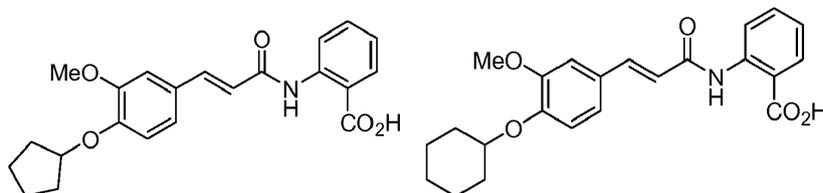
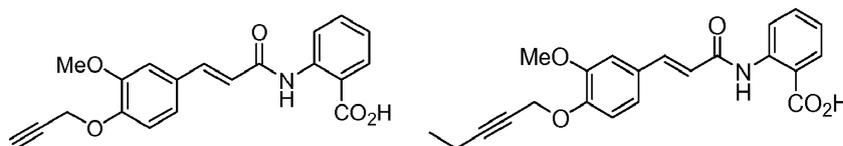
en la que G es un anillo de ciclopentilo, un anillo de ciclohexilo o un anillo de 1,2,3-triazol 1,4-disustituido; y

q es un número entero entre 0 y 6;

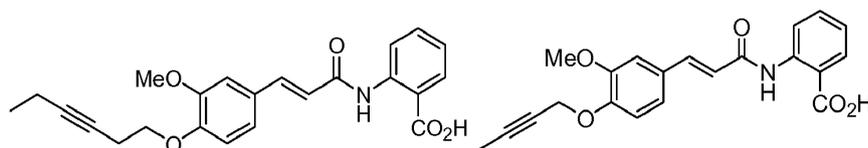
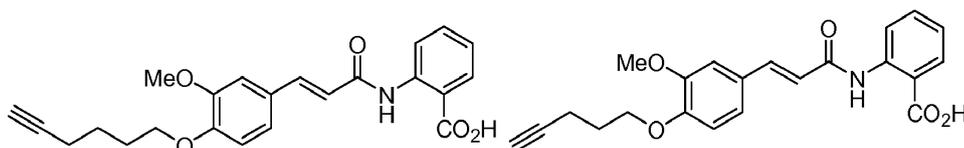
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Ejemplos no limitativos de compuestos adecuados de fórmulas 4 y 6 como se describieron anteriormente incluyen:

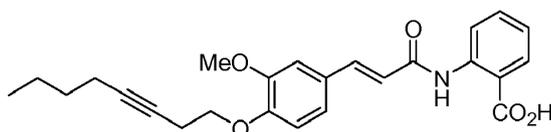
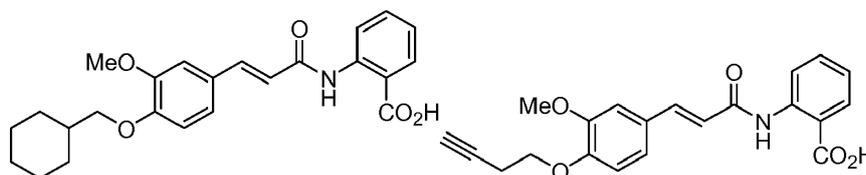
10



15

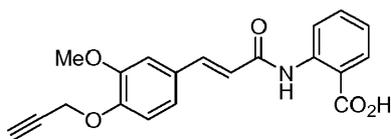


20



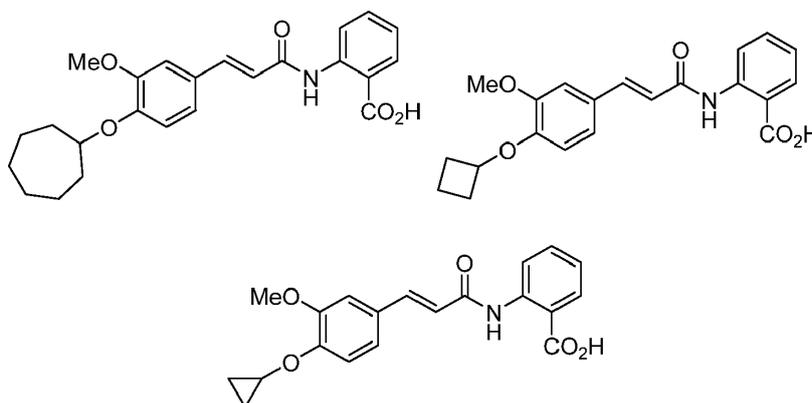
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En una realización preferida, el compuesto tiene la fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto de la invención, se proporciona un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en:



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

10 para ser usado en el tratamiento de una enfermedad ocular asociada con inflamación y/o proliferación vascular en un sujeto;

en que la enfermedad ocular se selecciona entre el grupo que comprende retinopatía diabética, edema corneal, uveítis anterior y posterior, pterigión, enfermedades corneales, ojo seco, conjuntivitis, exudación inducida por alergía y láser, degeneración macular no relacionada con la edad, edema macular, degeneración macular relacionada con la edad y enfermedad ocular de von Hippel-Lindau.

15 En una realización adicional de los anteriores aspectos de la invención, la enfermedad corneal está provocada por una infección de un microbio o microorganismo. El microbio o microorganismo se puede seleccionar entre cualquiera de los grupos que comprenden bacterias, virus, hongos, amebas y parásitos.

Preferentemente, la enfermedad ocular es retinopatía diabética en los aspectos anteriores de la invención.

20 Como se usa en la presente memoria descriptiva, el tratamiento la enfermedad ocular incluye inhibir el progreso de enfermedades oculares, prevenir la enfermedad ocular y/o mejorar un síntoma de la enfermedad ocular.

**Descripción detallada de la invención**

En esta memoria descriptiva, se usa un cierto número de términos que son bien conocidos por los expertos destinatarios. No obstante, para los fines de una mayor claridad, se definirá cierto número de términos.

25 Como se usa en la presente memoria descriptiva, el término "sin sustituir" significa que no hay sustituyente o que los únicos sustituyentes son hidrógeno.

El término "opcionalmente sustituido", como se usa en toda la memoria descriptiva, indica que el grupo puede estar o no estar adicionalmente sustituido o condensado (con el fin de formar un sistema policíclico condensado), con uno o más grupos sustituyentes que no son hidrógeno. En algunas realizaciones, los grupos sustituyentes son uno o más grupos independientemente seleccionados entre el grupo que consiste en halógeno, =O, =S, -CN, -NO<sub>2</sub>, -CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, alquilo, alquenilo, alquinilo, haloalquilo, haloalquenilo, haloalquinilo, heteroalquilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, heterocicloalquilo, heterocicloalquenilo, arilo, heteroarilo, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilalquilo, heteroarilalquilo, arilalquilo, cicloalquilalquenilo, heterocicloalquilalquenilo, arilalquenilo, heteroarilalquenilo, cicloalquilheteroalquilo, heterocicloalquilheteroalquilo, arilheteroalquilo, heteroarilheteroalquilo, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, alcoxilalquilo, alcoxícicloalquilo, alcoxiheterocicloalquilo, alcoxiarilo, alcoxiheteroarilo, alcoxicarbonilo, alquilaminocarbonilo, alqueniloxi, alquiniloxi, cicloalquiloxi, cicloalqueniloxi, heterocicloalquiloxi, heterocicloalqueniloxi, ariloxi, fenoxi, benciloxi, heteroariloxi, arilalquiloxi, arilalquilo, heteroarilalquilo, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilalquilo, arilalquiloxi, amino, alquilamino, acilamino, aminoalquilo, arilamino, sulfonilamino, sulfinilamino, sulfonilo,

35

alquilsulfonilo, arilsulfonilo, aminosulfonilo, sulfonilo, alquilsulfinilo, arilsulfinilo, aminosulfinilaminoalquilo, -COOH, -C(O)OR<sup>11</sup>, CONHR<sup>11</sup>, NHCOR<sup>11</sup>, NHCOOR<sup>11</sup>, NHCONHR<sup>11</sup>, C(=NOH)R<sup>11</sup>, -SH, -SR<sup>11</sup>, -OR<sup>11</sup> y acilo, en que R<sup>11</sup> es H, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, heteroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquenilo C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, cicloalquenilo C<sub>3</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, heterocicloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, heterocicloalquenilo C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, arilo C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub> opcionalmente sustituido, heteroarilo C<sub>1</sub>-C<sub>18</sub> opcionalmente sustituido y acilo.

“Alquilo” como un grupo o parte de un grupo se refiere a un grupo de hidrocarburo alifático lineal o ramificado, preferentemente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>14</sub>, más preferentemente alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub>, lo más preferentemente C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> salvo que se indique otra cosa. Ejemplos de sustituyentes alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineal o ramificado adecuados incluyen metilo, etilo, n-propilo, 2-propilo, n-butilo, sec-butilo, t-butilo, hexilo y similares. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

“Alquilamino” incluye monoalquilamino y dialquilamino, salvo que se especifique otra cosa. “Monoalquilamino” significa un grupo -NH-alquilo, en el que el alquilo es como se definió anteriormente. “Dialquilamino” significa un grupo -N(alquilo)<sub>2</sub>, en el que cada alquilo puede ser igual o diferente y son cada uno como se define en la presente memoria descriptiva para alquilo. El grupo alquilo es preferentemente un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

“Arlamino” incluye monoarilamino diarilamino, salvo que se especifique otra cosa. Monoarilamino significa un grupo de fórmula aril-NH-, en el que el arilo es como se define en la presente memoria descriptiva. Diarilamino significa un grupo de fórmula (aril)<sub>2</sub>N-, en que cada arilo puede ser igual o diferente y son cada uno como se define en la presente memoria descriptiva para arilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

“Acilo” significa un grupo alquil-CO- en el que el grupo alquilo es como se define en la presente memoria descriptiva. Ejemplos de acilo incluyen acetilo y benzoilo. El grupo alquilo es preferentemente un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

“Alquenilo” como un grupo o parte de un grupo indica un grupo de hidrocarburo alifático que contiene al menos un enlace doble carbono-carbono y que puede ser lineal o ramificado, preferentemente que tiene 2-14 átomos de carbono, más preferentemente 2-12 átomos de carbono, lo más preferentemente 2-6 átomos de carbono en la cadena normal. El grupo puede contener una pluralidad de enlaces dobles en la cadena normal y la orientación de cada uno es independientemente E o Z. Ejemplos de grupos alquenilo incluyen, pero sin limitación, etenilo, propenilo, butenilo, pentenilo, hexenilo, heptenilo, octenilo y nonenilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

“Alcoxi” se refiere a un grupo -O-alquilo en el que el alquilo es como se define en la presente memoria descriptiva. Preferentemente, el alcoxi es un alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. Ejemplos incluyen, pero sin limitación, metoxi y etoxi. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

“Alqueniloxi” se refiere a un grupo -O-alquenilo en el que alquenilo es como se define en la presente memoria descriptiva. Los grupos alqueniloxi preferidos son grupos alqueniloxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

“Alquiniloxi” se refiere a un grupo -O-alquinilo en el que el alquinilo es como se define en la presente memoria descriptiva. Los grupos alquiniloxi preferidos son grupos alquiniloxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

“Alcoxicarbonilo” se refiere a un grupo -C(O)-O-alquilo en el que alquilo es como se define en la presente memoria descriptiva. El grupo alquilo es preferentemente un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. Ejemplos incluyen, pero sin limitación, metoxicarbonilo y etoxicarbonilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

“Alquilsulfinilo” significa un grupo -S(O)-alquilo en el que alquilo es como se define con anterioridad. El grupo alquilo es preferentemente un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. Ejemplos de grupos alquilsulfinilo incluyen, pero sin limitación, metilsulfinilo y etilsulfinilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

“Alquilsulfonilo” se refiere a un grupo -S(O)<sub>2</sub>-alquilo en el que el alquilo es como se define con anterioridad. El grupo alquilo es preferentemente un grupo alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. Ejemplos incluyen, pero sin limitación metilsulfonilo y etilsulfonilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

“Alquinilo”, como un grupo o parte de un grupo, significa un grupo de hidrocarburo alifático que contiene un enlace triple carbono-carbono y que puede ser lineal o ramificado, que tiene preferentemente 2-14 átomos de carbono, más preferentemente 2-12 átomos de carbono, más preferentemente 2-6 átomos de carbono en la cadena normal. Ejemplos de estructuras incluyen, pero sin limitación, etinilo y propinilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

“Alquilaminocarbonilo” se refiere a un grupo alquilaminocarbonilo en el que el alquilamino es como se definió con anterioridad. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

5 “Cicloalquilo” se refiere a un carbociclo saturado o parcialmente saturado, monocíclico o policíclico, condensado o espiro, que contiene preferentemente de 3 a 9 átomos de carbono por anillo, como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y similares, salvo que se especifique otra cosa. Incluye sistemas monocíclicos como ciclopropilo y ciclohexilo, sistemas bicíclicos como decalina y sistemas policíclicos como adamantano. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

10 “Cicloalquenilo” significa un sistema de anillos no aromático monocíclico o multicíclico que contiene al menos un enlace doble carbono-carbono y, preferentemente, que tiene de 5 a 10 átomos de carbono por anillo. Ejemplos de anillos de cicloalquenilo monocíclicos incluyen ciclohexenilo, ciclohexenilo o cicloheptenilo. El grupo cicloalquenilo puede estar sustituido con uno o más grupos sustituyentes. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

15 La exposición que antecede de sustituyentes alquilo y cicloalquilo se aplica también a las partes alquílicas de otros sustituyentes, como, sin limitación, los sustituyentes alcoxi, alquilaminas, alquilcetonas, arilalquilo, heteroarilalquilo, alquilsulfonilo y éster alquílico y similares.

“Cicloalquilalquilo” significa un grupo cicloalquilalquilo en el que los restos cicloalquilo y alquilo son como se describieron previamente. Ejemplos de grupos monocicloalquilalquilo incluyen ciclopropilmetilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo y cicloheptilmetilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

“Halógeno” representa flúor, cloro, bromo o yodo.

20 “Heterocicloalquilo” se refiere a un anillo monocíclico, bicíclico o policíclico saturado o parcialmente saturado que contiene al menos un heteroátomo seleccionado entre nitrógeno, azufre, oxígeno, preferentemente de 1 a 3 heteroátomos en al menos un anillo. Cada anillo es preferentemente de 3 a 10 miembros, más preferentemente de 4 a 7 miembros. Ejemplos de sustituyentes heterocicloalquilo adecuados incluyen pirrolidilo, tetrahidrofurilo, tetrahidrotiofuranilo, piperidilo, piperazilo, tetrahidropirranilo, morfolino, 1,3-diazapano, 1,4-diazapano, 1,4-oxazepano y 1,4-oxatiapano. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

“Heterocicloalquenilo” se refiere a un heterocicloalquilo como se describió anteriormente, pero que contiene al menos un enlace doble. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

30 “Heterocicloalquilalquilo” se refiere a un grupo heterocicloalquilalquilo en el que los restos heterocicloalquilo y alquilo son como se describieron previamente. Ejemplos de grupos heterocicloalquilalquilo incluyen (2-tetrahidrofuril)metilo, (2-tetrahidrotiofuranil)metilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

35 “Heteroalquilo” se refiere a un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada, que tiene preferentemente de 2 a 14 átomos de carbono, más preferentemente de 2 a 10 átomos de carbono en la cadena, de los que uno o más ha sido sustituidos con un heteroátomo seleccionado entre S, O, P y N. Ejemplos de heteroalquilo incluyen alquil-éteres, alquilaminas secundarias y terciarias, amidas, sulfuros de alquilo y similares. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente. Como se usa en la presente memoria descriptiva, la referencia a la cadena normal, cuando se usa en el contexto de un grupo de puente, se refiere a la cadena directa de átomos que conecta las dos posiciones terminales del grupo de puente.

40 “Arilo”, como un grupo o parte de un grupo indica (i) un carbociclo aromático, monocíclico o policíclico condensado, opcionalmente sustituido (estructura de anillos que tiene átomos del anillo que son todos de carbono), que tiene preferentemente de 5 a 12 átomos de carbono por anillo. Ejemplos de grupos arilo incluyen fenilo, naftilo y similares; (ii) un resto carbocíclico aromático bicíclico parcialmente saturado y opcionalmente sustituido en el que un grupo fenilo y cicloalquilo  $C_{5-7}$  o cicloalquenilo  $C_{5-7}$  están conjuntamente condensados para formar una estructura cíclica, como tetrahidronaftilo, indenilo o indanilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

45 “Arilalquenilo” significa un grupo arilalquenilo en el que el arilo y el alquenilo son como se describieron previamente. Ejemplos de grupos arilalquenilo incluyen fenilalilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

“Arilalquilo” significa un grupo arilalquilo en el que los restos arilo y alquilo son como se describieron previamente. Los grupos arilalquilo preferidos contienen un resto alquilo  $C_{1-5}$ . Ejemplos de grupos arilalquilo incluyen bencilo, fenetilo y naftelenemetilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

50 “Heteroarilo”, solo o como parte de un grupo, se refiere a grupos que contienen un anillo aromático (preferentemente un anillo aromático de 5 o 6 miembros) que tiene uno o más heteroátomos como átomos del anillo en el anillo aromático, siendo el resto de los átomos del anillo siendo átomos de carbono. Heteroátomos adecuados incluyen nitrógeno, oxígeno y azufre. Ejemplos de heteroarilo incluyen tiofeno, benzotiofeno, benzofurano, bencimidazol, benzoxazol, benzotiazol, bencisotiazol, nafto [2,3-b]tiofeno, furano, isoindolizina xantoleno, fenoxatina, pirrol,

imidazol, pirazol, piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, indol, isoindol, 1H-indazol, purina, quinolina, isoquinolina, ftalazina, naftiridina, quinoxalina, cinolina, carbazol, fenantridina, acridina, fenazina, tiazol, isotiazol, fenotiazina, oxazol, isooxazol, furazano, fenozazina, 2-, 3- o 4-piridilo, 2-, 3-, 4-, 5- o 8-quinolilo, 1-, 3-, 4- o 5-isoquinolinilo 1-, 2- o 3-indolilo y 2- o 3-tienilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

- 5 "Heteroarilalquilo" significa un grupo heteroarilalquilo en el que los restos heteroarilo y alquilo son como se describieron previamente. Los grupos heteroarilalquilo preferidos contienen un resto alquilo inferior. Ejemplos de grupos heteroarilalquilo incluyen piridilmetilo. El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

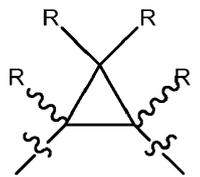
- 10 "Alquilo inferior", como un grupo, significa, salvo que se especifique otra cosa, un grupo de hidrocarburo alifático que puede ser lineal o ramificado, que tiene de 1 a 6 átomos de carbono en la cadena, más preferentemente de 1 a 4 átomos de carbono como metilo, etilo, propilo (n-propilo o isopropilo) o butilo (n-butilo, isobutilo o butilo terciario). El grupo puede ser un grupo terminal o un grupo de puente.

Los compuestos se pueden preparar por cualquier método adecuado conocido por un experto en la técnica. Por ejemplo, se describen métodos adecuados para la preparación de los compuestos de la invención en el documento WO 2008/003141,

- 15 Debe entenderse que están incluidos en el grupo de compuestos de la invención anterior las formas que incluyen diastereoisómeros, enantiómeros, tautómeros e isómeros geométricos en un isómero configuracional "E" o "Z" o una mezcla de isómeros E y Z. Debe entenderse también que algunas formas isómeras, como diastereómeros, enantiómeros e isómeros geométricos, pueden ser separadas mediante métodos físicos y/o químicos y por los expertos en la técnica.

- 20 Algunos de los compuestos usados en las realizaciones descritas pueden existir como estereoisómeros, únicos, racematos y/o mezclas de enantiómeros y/o diastereómeros. Todos estos estereoisómeros únicos, racematos y sus mezclas, está previsto que estén dentro del alcance de la materia descrita y reivindicada.

Algunos de los compuestos usados en las realizaciones descritas son ciclopropanos sustituidos que tienen la fórmula general



- 25 La estructura mostrada está previsto que incluya las formas isómeras de los ciclopropanos, que incluyen diastereoisómeros y enantiómeros.

- 30 Adicionalmente, los compuestos de la invención que antecedente está previsto que abarquen, cuando sea aplicable, formas solvatadas y sin solvatar de los compuestos. Por tanto, cada fórmula incluye compuestos que tienen la estructura indicada, que incluyen formas hidratadas y así como no hidratadas.

Además de los compuestos de la invención que anteceden, los compuestos de las diversas realizaciones incluyen sales farmacéuticamente aceptables.

- 35 La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales que retienen la actividad biológica deseada de los compuestos anteriormente identificados e incluyen sales por adición de ácidos y sales por adición de bases farmacéuticamente aceptables. Las sales por adición de ácidos farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos que anteceden pueden ser preparadas a partir de un ácido inorgánico o de un ácido orgánico. Ejemplos de estos ácidos inorgánicos son ácido clorhídrico, sulfúrico y fosfórico. Los ácidos orgánicos apropiados se pueden seleccionar entre las clases alifáticas, cicloalifáticas, aromáticas o carboxílicas heterocíclicas y sulfónicas, de ácidos orgánicos, de los que son ejemplos ácido fórmico, acético, propiónico, succínico, glicólico, glucónico, láctico, málico, tartárico, cítrico, fumárico, maleico, alquilsulfónico y arilsulfónico. Las sales por adición de bases farmacéuticamente adecuadas de los compuestos anteriores incluyen sales metálicas preparadas a partir de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio, aluminio y cinc y sales orgánicas preparadas a partir de bases orgánicas como colina, dietanolamina o morfina. Otros ejemplos de sales orgánicas son: sales de amonio, sales cuaternarias como sales de tetrametilamonio; sales por adición de aminoácidos como sales con glicina y arginina. Se puede encontrar información adicional sobre sales farmacéuticamente aceptables en la publicación Remington's Pharmaceutical Sciences, edición 19, Mack Publishing Co., Easton, PA 1995. En el caso de que los agentes sean sólidos, se entiende por los expertos en la técnica que los compuestos, agentes y sales de la invención pueden existir en diferentes formas cristalinas o polimórficas, todas las cuales está previsto que estén dentro del alcance de la presente invención y las fórmulas especificadas.

“Profármaco” significa un compuesto que es convertible *in vivo* por medios metabólicos (por ejemplo, por hidrólisis, reducción u oxidación) en un compuesto de la invención anterior. Por ejemplo, un profármaco de éster de un compuesto de la invención anterior que contiene un grupo hidroxilo puede ser convertible mediante hidrólisis *in vivo* en la molécula parental. Los ésteres adecuados de los compuestos de la invención que anteceden que contienen grupos hidroxilo son, por ejemplo, acetatos, citratos, lactatos, tartratos, malonatos, oxalatos, salicilatos, propionatos, succinatos, fumaratos, maleatos, metileno-bis-β-hidroxinaftoatos, gestisatos, isetionatos, di-p-toluilitartratos, metanosulfonatos, etanosulfonatos, bencenosulfonatos, p-toluenosulfonatos, ciclohexilsulfamatos y quinatos. Como otro ejemplo, un profármaco éster de un compuesto de la invención anterior que contiene un grupo carboxilo puede ser convertible mediante hidrólisis *in vivo* en la molécula parental. (Ejemplos de profármacos de ésteres son los descritos por F. J. Leinweber, Drug Metab. Res., 18: 379, 1987).

Los términos “tratando”, “tratar” o “tratamiento” se refieren generalmente a la mejora o eliminación de un estado citado una vez que el estado se ha establecido. El término “profilaxis” se refiere generalmente al tratamiento para prevenir la aparición de un estado citado o de un proceso que puede conducir al estado (profilaxis “primaria”), o la recaída de síntomas de un estado.

El término “sujeto” se refiere generalmente a cualquier animal de sangre caliente como, pero sin limitación, un ratón, cobaya, perro, caballo o ser humano. En una realización, el sujeto es humano.

La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” o “cantidad eficaz” es una cantidad suficiente para efectuar resultados clínicos beneficiosos o deseados. Una cantidad eficaz puede ser administrada en una o más administraciones. Una cantidad eficaz normalmente es suficiente para aliviar, mejorar, estabilizar, invertir, ralentizar o retrasar el progreso del estado de enfermedad.

La expresión “farmacéuticamente aceptable” se refiere generalmente a una sustancia o composición que es compatible química y/o toxicológicamente con los demás ingredientes que incluyen una formulación y/o con el sujeto que se está tratando.

Los compuestos como se utilizan en los cinco aspectos anteriores de la presente invención se refieren generalmente a compuestos, sus profármacos, sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos y/o profármacos, e hidratos o solvatos de los compuestos, sales y/o profármacos, así como todos los estereoisómeros (incluidos los diastereoisómeros y enantiómeros), tautómeros y compuestos isotópicamente marcados. Los compuestos de la presente invención pueden existir en formas sin solvatar así como solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables como agua, etanol y similares, y está previsto que la invención abarque las formas tanto solvatadas y como sin solvatar.

La expresión “su derivado” cuando se usa haciendo referencia a los compuestos de la presente invención, se refiere generalmente a profármacos, sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos y/o profármacos, e hidratos o solvatos de los compuestos, sales y/o profármacos.

La administración de los compuestos de la invención que anteceden o cualquier composición(es) que comprende(n) los mismos a sujetos se puede hacer mediante cualquiera de los modos aceptados para una administración enteral, como las vías oral o rectal, o mediante administración parenteral, como subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica. La inyección puede ser por bolo o a través de una infusión constante o intermitente. El compuesto activo es incluido normalmente en un vehículo, excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable en una cantidad suficiente para administrar al paciente una dosis terapéuticamente eficaz.

En el uso de los compuestos, estos pueden ser administrados en cualquier forma o modo que haga que el compuesto sea biodisponible. Un experto en la técnica para preparar formulaciones puede seleccionar fácilmente la forma y el modo apropiados de administración, dependiendo de las características particulares del compuesto seleccionado, el estado que va a ser tratado, la fase del estado que va a ser tratado y otras circunstancias relevantes. Véase la publicación Remingtons Pharmaceutical Sciences, 19ª edición, Mack Publishing Co. (1995) para más información.

Los compuestos pueden ser administrados solos o en la forma de una composición farmacéutica en combinación con un vehículo, diluyente, adyuvante y/o excipiente farmacéuticamente aceptable. Los compuestos pueden ser administrados como los compuestos en sí mismos o en la forma de sus sales o derivados farmacéuticamente aceptables.

Sin embargo, los compuestos normalmente se usan en la forma de composiciones farmacéuticas que son formuladas dependiendo del modo de administración deseado. Las composiciones adecuadas para ser usadas de acuerdo con los métodos de la presente invención se pueden preparar según métodos y procedimientos que son conocidos por un experto en la técnica y, consecuentemente, pueden incluir un vehículo, excipiente, diluyente y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable. Como tal, en una realización adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que incluye un compuesto de la invención anterior y un vehículo, diluyente, adyuvante

o excipiente farmacéuticamente aceptable.

La invención en otras realizaciones proporciona un envase o estuche de ensayo farmacéutico que comprende uno o más recipientes rellenos con uno o más de los ingredientes de las composiciones farmacéuticas de la invención. En este envase o estuche de ensayo se puede encontrar un recipiente que tiene una dosificación unitaria del (o de los) agente(s). Los estuches de ensayo incluyen una composición que comprende un agente eficaz en forma de concentrados (que incluye composiciones liofilizadas), que puede ser diluido adicionalmente antes de ser usado o se puede proporcionar a la concentración de uso, en que los viales incluyen una o más dosificaciones. Convenientemente, en los estuches de ensayo, se pueden proporcionar dosificaciones únicas en viales esterilizados, de forma que el facultativo pueda emplear los viales directamente, en que los viales tendrán la cantidad y concentración deseadas de agente(s). Asociado con este (o estos) recipiente(s) puede haber varios materiales escritos como instrucciones de uso, o un indicación de la forma prescrita por una agencia oficial que regula la fabricación, uso o venta de productos farmacéuticos o biológicos, que recoja la aprobación de la agencia de fabricación, el uso o la venta para una administración a seres humanos.

Los compuestos pueden ser usados o administrados en combinación con uno o más fármaco(s) para el tratamiento del trastorno/enfermedades mencionados. Los componentes pueden ser administrados en la misma formulación o en formulaciones o composiciones separadas. Si son administrados en formulaciones o composiciones separadas, los compuestos de la invención o las formulaciones o composiciones que comprenden los mismos pueden ser administrados de forma secuencial o simultánea con el (o los) otro(s) fármaco(s).

Además de ser susceptibles de ser administrados en combinación con uno o más fármacos adicionales, los compuestos pueden ser usados en una terapia de combinación. Cuando se hace esto, los compuestos son administrados normalmente en combinación de unos con otros. Por tanto, uno o más de los compuestos de la invención pueden ser administrados de forma simultánea (como una preparación combinada) o secuencial para el fin de conseguir un efecto deseado. Esto es especialmente deseable cuando el perfil terapéutico de cada compuesto es diferente, de forma que el efecto combinado de los dos proporciona un resultado terapéutico mejorado. La administración puede ser sistémica, regional o local.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden ser administradas mediante vías estándar. En general, las composiciones pueden ser administradas mediante la vía parenteral (por ejemplo, intravenosa, intraespinal, subcutánea o intramuscular), oral o tópica. La vía de administración particular que va a ser usada en cualquier circunstancia dada dependerá de un cierto número de factores que incluyen la naturaleza del estado que va a ser tratado, la gravedad y el alcance del estado, la dosificación necesaria del compuesto particular que va a ser suministrado y los efectos secundarios potenciales del compuesto.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención para una inyección parenteral comprenden soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas esterilizadas y farmacéuticamente aceptables, así como polvos esterilizados para ser reconstituídos en soluciones o dispersiones inyectables esterilizadas justo antes de ser usadas. Ejemplos de vehículos, diluyentes, disolventes o portadores acuosos y no acuosos adecuados incluyen agua, etanol, polioles (como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares), y sus mezclas, aceites vegetales (como aceite de oliva), y ésteres orgánicos inyectables como oleato de etilo. La fluidez apropiada puede ser mantenida, por ejemplo, mediante el uso de materiales de revestimiento como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partículas necesario en el caso de las dispersiones y mediante el uso de tensioactivos.

Ejemplos de vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables son agua desmineralizada o destilada; solución salina; aceites basados en vegetales como aceite de cacahuete, aceite de cártamo, aceite de oliva, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, aceite de sésamo, aceite de arachís o aceite de coco; aceites de silicona, que incluyen polisiloxanos, como metil-polisiloxano, fenil-polisiloxano y metilfenil-polisiloxano; siliconas volátiles; aceites minerales como parafina líquida, parafina blanda o escualeno; derivados de celulosa como metilcelulosa, etilcelulosa, carboximetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio o hidroxipropilmetilcelulosa; alcanoles inferiores, por ejemplo, etanol o isopropanol; aralcanoles inferiores; polialquilenglicoles inferiores o alquilenglicoles inferiores, por ejemplo, polietilenglicol, polipropilenglicol, etilenglicol, propilenglicol, 1,3-butilenglicol o glicerina; ésteres de ácidos grasos como palmitato de isopropilo, miristato de isopropilo u oleato de etilo; polivinilpirridona, agar, carragenano, goma de tragacanto o goma arábiga y gelatina de petróleo. Normalmente, el vehículo o vehículos será de 10% a 99,9% en peso de las composiciones.

Estas composiciones pueden contener también uno o más adyuvantes como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de microorganismos se puede asegurar mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, ácido fenol-sorbico y similares. Puede ser deseable también incluir agentes isotónicos como azúcares, cloruro de sodio y similares. La absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable se puede llevar a cabo mediante la inclusión de agentes que retrasan la absorción, como monoestearato de aluminio y gelatina.

Las composiciones de la invención pueden estar en una forma adecuada para una administración mediante

inyección, en la forma de una formulación adecuada para una ingestión oral (como cápsulas, comprimidos, capsulillas, elixires, por ejemplo), en la forma de un ungüento, crema o loción adecuada para una administración tópica, en una forma adecuada para un suministro en forma de gotas oculares, en una forma de aerosol adecuada para una administración mediante inhalación, como inhalación intranasal o inhalación oral, en una forma adecuada para una administración parenteral, es decir, una inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa.

Para una administración en forma de una solución o suspensión inyectable, los diluyentes o vehículos parenteralmente aceptables y no tóxicos pueden incluir solución de Ringer, solución salina isotónica, solución salina tamponada con fosfato, etanol y 1,2-propilenglicol. La solución o suspensión inyectable puede ser esterilizada, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención bacteriana, o mediante la incorporación de agentes esterilizadores en la forma de composiciones sólidas esterilizadas que pueden ser disueltas o dispersadas en agua esterilizada u otro medio inyectable esterilizado justo antes de ser usado.

Las formas de dosificación sólida para una administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En estas formas de dosificación sólida, el compuesto activo se mezcla con al menos un excipiente o vehículo inerte farmacéuticamente aceptable como citrato de sodio o fosfato de dicalcio y/o a) materiales de carga o diluyentes como almidones, lactosa, dextrosa, sacarosa, glucosa, sorbitol, manitol y ácido silícico, b) aglutinantes que sean aceptables en la práctica farmacéutica humana y veterinaria como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos (por ejemplo, alginato de sodio), gelatina, polivinilpirrolidona, almidón de maíz, sacarosa y goma arábiga, c) humectantes como glicerol, d) agentes disgregantes como agar, agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos, carbonato de sodio, almidón de maíz, metilcelulosa, polivinilpirrolidona, goma de guar, goma de xantano y bentonita, e) agentes retardantes de solución como parafina, f) aceleradores de la absorción como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes como caolín y arcilla de bentonita, y/o i) lubricantes como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio, ácido esteárico, oleato de sodio, cloruro de sodio y sus mezclas. En el caso de las cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma de dosificación puede comprender también agentes tamponantes.

Las composiciones sólidas de un tipo similar pueden ser empleadas también como materiales de carga en cápsulas de gelatina rellenas blandas y duras usando excipientes como lactosa o azúcar de leche, así como polietilenglicoles de peso molecular elevado y similares.

Las formas de dosificación sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden ser preparadas con revestimientos y envolturas, como revestimientos entéricos y otros revestimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Pueden contener opcionalmente agentes de opacidad y pueden ser también de una composición que libere solamente el (o los) ingrediente(s) activo(s) o, preferentemente, en una cierta parte del tracto intestinal, opcionalmente, de una manera retardada. Ejemplos de composiciones incluyentes que pueden ser usadas incluyen sustancias polímeras y ceras.

Los compuestos activos pueden estar también en forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes anteriormente mencionados.

Las formas de dosificación líquida para una administración oral incluyen emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes comúnmente usados en la técnica como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino, girasol, cártamo, arachís, coco y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles, triglicéridos, ésteres de ácidos grasos y sorbitán, lactosa, sorbitol, manitol, dextrosa, caolín, celulosa, carbonato de calcio, silicato de calcio y/o fosfato de dicalcio y sus mezclas.

Aparte de los diluyentes inertes, las composiciones orales pueden incluir también adyuvantes como agentes humectantes, agentes osmóticos, agentes para mejorar el bienestar, agentes emulsionantes y suspensores, edulcorantes, agentes espesantes, conservantes, bactericidas y/o bacteriostáticos, agentes tamponantes, agentes de retraso en el tiempo, agentes de sabor y perfumantes. Los edulcorantes adecuados incluyen sacarosa, lactosa, glucosa, aspartamo y sacarina. Los agentes para dar sabor adecuados incluyen aceite de aroma de menta, aceite de gaulteria, cereza, naranja o frambuesa. Los agentes de retraso en el tiempo adecuados incluyen monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Los agentes humectantes adecuados se podrían seleccionar entre el grupo que comprende derivados de celulosa como hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa, metilcelulosa, hidroxietilcelulosa, dextrano, gelatina, polioles, líquidos como glicerina, polietilenglicol, polisorbato, propilenglicol, poli(alcohol vinílico), povidona (polivinilpirrolidona) y copolímeros como copolímeros de bloques de EO/PO. Los bactericidas y/o bacteriostáticos adecuados incluyen agentes antibacterianos catiónicos que se unen con una afinidad elevada a membranas celulares con carga negativa de bacterias desplazando cationes divalentes en las membranas y provocando la pérdida de componentes celulares esenciales (Gilbert y Moore 2005).

- Consecuentemente, están contempladas en la presente memoria descriptiva como ejemplos no limitativos de antibacterianos catiónicos las sustancias catiónicas como biguanidas (es decir, sales de alexidina, base libre de alexidina, sal de clorhexidina, hexametileno-biguanidas y biguanidas polímeras como polihexametileno-biguanida [PHMB]), compuestos de amonio cuaternario (es decir, poliquaternium-1 [POLYQUAD], número de registro químico 75345-27-6 y cloruro de cetilpiridinio [CPC] y miristamidopropil-dimetilamina [ALDOX], povidona-yodo, peróxido de hidrógeno, alcohol bencílico, indolicinas, alquil-glucósido etoxilado y poli(óxido de etileno) no aminado. Análogamente, el homopolímero de cloruro de dimetil dialilamonio y las resinas de intercambio aniónico fuertemente básicas están contemplados también en la presente invención como ejemplos no limitativos de agentes antimicrobianos.
- 5 Para aplicaciones tópicas en el ojo, están contemplados compuestos de disociación iónica como tensioactivos, como diaminotriacetato de lauroetileno, éster de ácido graso de polietilenglicol, una alcanolamida, un óxido de amida, un alcohol etoxilado y un ácido etoxilado.
- 10 Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes suspensores como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietileno-sorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, y sus mezclas. Las suspensiones pueden incluir también agentes dispersantes como lecitina, ésteres de polioxietileno y ácidos grasos como ácido esteárico, polioxietileno-sorbitol, mono- o di-oleato, -estearato o -laurato de polioxietileno-sorbitán y similares.
- 15 Las composiciones tópicas de la presente invención comprenden un ingrediente activo junto con uno o más vehículos aceptables y, opcionalmente, cualesquiera otros ingredientes terapéuticos. Las composiciones adecuadas para una administración tópica incluyen preparaciones líquidas o semilíquidas adecuadas para una penetración a través de la piel en el lugar en que es requerido el tratamiento, como linimentos, lociones, cremas, polvos, parches, pulverizaciones, inhaladores, ungüentos o pastas y gotas adecuadas para una administración a los ojos, oídos o nariz. El ingrediente activo se mezcla bajo condiciones estériles con un vehículo farmacéuticamente aceptable y cualesquiera conservantes, tampones o propelentes necesarios que se puedan requerir.
- 20 Las gotas según la presente invención pueden comprender soluciones o suspensiones acuosas o aceitosas esterilizadas. Estas se pueden preparar disolviendo el ingrediente activo en una solución acuosa de un agente bactericida y/o fungicida y/o cualquier otro conservante adecuado y, opcionalmente, que incluye un agente tensioactivo. La solución resultante puede ser seguidamente aclarada por filtración, transferida a un recipiente adecuado y esterilizada. La esterilización se puede conseguir mediante: tratamiento autoclave o manteniendo a 90 °C-100 °C durante media hora, o mediante filtración seguida de transferencia a un recipiente mediante una técnica aséptica. Ejemplos de agentes bactericidas y fungicidas adecuados para la inclusión en las gotas son nitrato o acetato fenilmercurio (0,002%), cloruro de benzalconio (0,01%) y acetato de clorhexidina (0,01%). Los disolventes adecuados para la preparación de una solución aceitosa incluyen glicerol, alcohol diluido y propilenglicol.
- 25 Las lociones según la presente invención incluyen las adecuadas para una aplicación a la piel o los ojos. Una loción ocular puede comprender una solución acuosa esterilizada que contenga opcionalmente un bactericida y puede ser preparada mediante métodos análogos a los anteriormente descritos en relación con la preparación de gotas. Las lociones o linimentos para una aplicación a la piel pueden incluir también un agente para acelerar el secado y para enfriar la piel, como un alcohol o acetona, y/o un humedecedor como glicerol o un aceite como aceite de ricino o aceite de arachís.
- 30 Las cremas, ungüentos o pastas según la presente invención son formulaciones semisólidas del ingrediente activo para una aplicación externa. Se pueden preparar mezclando el ingrediente activo en una forma finamente dividida o de polvo, solo o en solución o suspensión en un fluido acuoso o no acuoso con una base grasa o no grasa. La base puede comprender hidrocarburos como parafina dura, blanda o líquida, glicerol, cera de abejas, un jabón metálico; un mucílago; un aceite de origen natural como aceite de almendras, maíz, arachís, ricino u oliva; una grasa de lanolina o sus derivados o un ácido graso como ácido esteárico u oleico junto con un alcohol como propilenglicol o macrogoles.
- 35 La composición puede incorporar cualquier tensioactivo adecuado como un tensioactivo aniónico, catiónico o no iónico, como ésteres de sorbitán o derivados de polioxietileno de los mismos. Pueden ser incluidos también agentes suspensores como gomas naturales, derivados de celulosa o materiales inorgánicos como sílices silicosas y otros ingredientes como lanolina.
- 40 Las composiciones para una administración rectal o vaginal son preferentemente supositorios que pueden ser preparados mezclando los compuestos con excipientes o vehículos no irritantes adecuados como manteca de cacao, polietilenglicol o cera para supositorios que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a la temperatura corporal y, por lo tanto, se funden en el recto o la cavidad vaginal y liberan el compuesto activo.
- 45 La cantidad de compuesto administrado preferentemente tratará y reducirá o aliviará el estado. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser fácilmente determinada por un facultativo encargado mediante el uso de técnicas
- 55

convencionales y observando los resultados obtenidos bajo circunstancias análogas. En la determinación de la cantidad terapéuticamente eficaz, se debe considerar un cierto número de factores, que incluyen, pero sin limitación, la especie de animal, su tamaño, edad y estado general de salud, el estado específico implicado, la gravedad del estado, la respuesta del paciente al tratamiento, el compuesto particular administrado, el modo de administración, la biodisponibilidad de la preparación administrada, el régimen de dosificación seleccionado, el uso de otros medicamentos y otras circunstancias relevantes.

Un experto en la técnica sería capaz, mediante una experimentación rutinaria, de determinar una cantidad eficaz y no tóxica del compuesto que se sería necesaria para tratar enfermedades y estados aplicables. Generalmente, la dosificación normal y eficaz se espera que esté en el intervalo de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 1000 mg por kilogramo de peso corporal por día, normalmente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 100 mg por kilogramo de peso corporal por día, incluso más normalmente de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 mg por kilogramo de peso corporal por día y, adicionalmente, de aproximadamente 5 mg por kilogramo de peso corporal por día. Pueden ser aplicadas inicialmente dosis pequeñas (0,01-1 mg/kg por día), seguidas de dosis crecientes hasta aproximadamente 1000 mg/kg por día. En el caso de que la respuesta en un sujeto sea insuficiente para estas dosis, se pueden emplear dosis incluso superiores (o dosis superiores eficaces mediante una vía de suministro diferente, más localizada) hasta el alcance que permita la tolerancia del paciente. Una dosificación más preferida estará en el intervalo de 0,1 a 300 mg por kilogramo de peso corporal por día, más preferentemente de 0,1 a 100 mg por kilogramo de peso corporal por día. Una dosis adecuada puede ser administrada en múltiples subdosis por día.

Normalmente, en aplicaciones terapéuticas, el tratamiento será para la duración del estado de enfermedad.

Además, será evidente para un experto en la técnica que la cantidad óptima y la separación de las dosificaciones individuales como el número de dosis de la composición dada por día para un número definido de días serán determinadas por la naturaleza y el alcance del estado de enfermedad que se está siendo tratado, la forma, vía y sitio de administración y la naturaleza del individuo particular que está siendo tratado. También, se pueden determinar condiciones óptimas mediante técnicas convencionales.

Si se desea y, para una distribución más eficaz, los compuestos pueden ser incorporados en sistemas de suministro de liberación lenta o dirigida a diana, como matrices polímeras, liposomas y microesferas.

Los liposomas son generalmente derivados de fosfolípidos u otras sustancias lípidas y se forman mediante cristales líquidos hidratados mono- o multilamlares que están dispersados en un medio acuoso. Se puede usar cualquier lípido no tóxico fisiológicamente aceptable y metabolizable para formar liposomas. Las composiciones en forma de liposomas pueden contener estabilizantes, conservantes, excipientes y similares. Los lípidos preferidos son los fosfolípidos y las fosfatidil-colinas (lecitinas), tanto naturales como sintéticos. Los métodos para formar liposomas son conocidos en la técnica y, en relación con esto se hace referencia específica a: Prescott, Ed., *Methods in Cell Biology*, Volumen XIV, Academic Press, New York, N.Y. (1976), pág. 33 y siguientes., cuyo contenido se incorpora como referencia a la presente memoria descriptiva.

Las composiciones pueden estar conjugadas a una serie de derivados de polietilenglicol (PEG). La adición de PEG a proteínas (PEGilación) es un método bien establecido para disminuir las velocidades de desaparición en plasma de proteínas, aumentando así su eficacia (Nucci *et al.*, 1991, *Adv. Drug Del. Rev.* 6: 133). Los beneficios adicionales de la PEGilación pueden incluir una mayor estabilidad de proteínas, inmunogenicidad disminuida, solubilidad aumentada y susceptibilidad disminuida a la proteólisis (Sheffield W. 2001, *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord.* 1: 1-22). Las moléculas de PEG contienen la estructura repetida básica de  $-(OCH_2CH_2)_n-OH$  y se clasifican en grupos según su peso molecular. Los derivados de PEG están conjugados a proteínas para aumentar su radio hidrodinámico y, en general, su aumento de la semivida está directamente relacionado con el tamaño de la cadena de PEG unida (Sheffield W. 2001, *Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord.* 1:1-22).

Las composiciones pueden ser administradas también en la forma de micropartículas. Las micropartículas biodegradables formadas a partir de poliláctido (PLA), poliláctido-co-glicólido (PLGA) y épsilon-caprolactona (é-caprolactona) han sido ampliamente como vehículos de fármacos para aumentar la semivida en plasma y prolongar así la eficacia (R. Kumar, M., 2000, *J Pharm Pharmaceut Sci.* 3(2) 234-258). Las micropartículas han sido formuladas para el suministro de una gama de candidatos de fármacos que incluyen las vacunas, antibióticos y DNA. Además, estas formulaciones han SIDO desarrolladas para diversas vías de suministro que incluyen una inyección subcutánea parenteral, inyección intravenosa e inhalación.

Las composiciones pueden incorporar una matriz de liberación controlada que está compuesta por acetato-isobutirato de sacarosa (SAIB) y un disolvente orgánico o mezcla de disolventes orgánicos. Pueden ser añadidos aditivos polímeros al portador como un modificador de la liberación para aumentar adicionalmente la viscosidad y ralentizar la velocidad de liberación. El SAIB es un aditivo alimenticio bien conocido. Es un derivado de sacarosa completamente esterificado muy hidrófobo, a la relación nominal de seis grupos isobutirato para dos grupos acetato. Como éster mixto, el SAIB no cristaliza sino que existe en forma de un líquido viscoso transparente. La mezcla de SAIB con un disolvente orgánico farmacéuticamente aceptado como etanol o alcohol bencílico disminuye la

viscosidad de la mezcla lo suficiente para permitir la inyección. Puede ser añadido un ingrediente farmacéutico activo al portador de suministro de SAIB para formar las formulaciones de soluciones o suspensiones de SAIB. Cuando la formulación es inyectada por vía subcutánea, el disolvente se difunde desde la matriz permitiendo que el fármaco de SAIB o la mezcla de polímeros de fármaco de SAIB se asienten como un depósito de formación *in situ*.

## 5 Breve descripción de las figuras

La figura 1 es un gráfico que expone el número de leucocitos en la retina de ratas testigos, ratas diabéticas y ratas diabéticas tratadas con FT011 a partir del estudio a corto plazo. Los datos se expresaron como media  $\pm$  SEM. \*P <0,05 frente a testigo y #P <0,05 frente a diabetes.

10 La figura 2 ilustra fotomicrografías representativas de Concanavalina A acoplada a rodamina teñidas para leucocitos del endotelio y adherentes de retina de ratas testigos (A), ratas diabéticas (B) y ratas diabéticas tratadas con FT011 (C).

La figura 3 es un gráfico que muestra los cambios en los niveles de mRNA de ICAM-1 retinal en ratas testigos, ratas diabéticas y ratas diabéticas tratadas con FT011. Los datos se expresaron como media  $\pm$  SEM. \*P <0,05 frente a testigo y #P <0,05 frente a diabetes.

15 La figura 4 es un gráfico que ilustra el número de capilaridades acelulares en secciones retinales teñidas con PAS de ratas testigos, ratas diabéticas y ratas diabéticas tratadas con 100 mg/kg/día de FT011 a partir de un estudio a largo plazo. Las capilaridades acelulares se expresaron como número de capilaridades acelulares por campo. Los datos se expresaron como media  $\pm$  SEM. \*P <0,05 frente a testigo y #P <0,05 frente a diabetes.

20 La figura 5 ilustra fotomicrografías representativas de capilaridades acelulares de retina teñida con PAS de ratas control (A), ratas diabéticas (B) y ratas diabéticas tratadas con 100 mg/kg/día de FT011 (C).

La figura 6 es un gráfico que expone el número de leucocitos en la retina de ratas testigos, ratas diabéticas y ratas diabéticas tratadas con FT061. Los datos se expresaron como media  $\pm$  SEM. \*P <0,05 frente a testigo y #P <0,05 frente a diabetes sin tratar.

25 La figura 7 ilustra fotomicrografías representativas de Concanavalina A acoplada a rodamina teñida para leucocitos del endotelio y adherentes de retina de ratas testigos (A), ratas diabéticas (B) y ratas diabéticas tratadas con FT061 (C).

La figura 8 es un gráfico que muestra los cambios en los niveles de mRNA de ICAM-1 retinal en ratas testigos, ratas diabéticas y ratas diabéticas tratadas con FT061. Los datos se expresaron como media  $\pm$  SEM. \*P <0,05 frente a testigo y #P <0,05 frente a diabetes sin tratar.

30 La figura 9 es un gráfico que ilustra los cambios en los niveles de mRNA de VEGF retinal en ratas testigos, ratas diabéticas y ratas diabéticas tratadas con FT061. Los datos se expresaron como media  $\pm$  SEM. #P <0,05 frente a testigo.

35 Se expondrán seguidamente realizaciones de la invención más en detalle haciendo referencia a los siguientes ejemplos y figuras, que se proporcionan solamente para ilustración y que no deben ser considerados como una limitación del alcance de la invención en modo alguno.

## Ejemplos

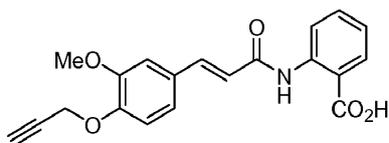
### Animales

40 Los estudios en animales se realizaron con la aprobación de la entidad Animal Welfare and Ethics Committee (St Vincent's Hospital y National Health and Medical Research Foundation de Australia). Todas las ratas recibieron comida de ratas normal (Certified Roent Diet n° 5002, LabDiet, EE.UU.) y agua de bebida *ad libitum*. Todos los animales fueron albergados en un entorno estable mantenido a  $22 \pm 1$  °C con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas comenzando a las 6 am.

### Ejemplo 1

#### Compuesto del ensayo (FT011)

45 El ácido (E)-2-[[3-(3-metoxi-4-propargiloxi)fenil]-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (FT011) tiene la estructura:



#### Ratas con retinopatía diabética

5 Noventa ratas hembras de seis semanas de edad, heterocigóticas (mRen-2) (St. Vincent's Hospital Animal House, Melbourne, Australia) fueron asignadas para recibir 55 mg/kg de estreptozotocina (STZ) (Sigma, St. Louis, EE.UU.) diluida en tampón de citrato 0,1 M, pH 4,5 o tampón de citrato solo (testigo no diabético) mediante inyección en la vena de la cola seguida de ayuno durante una noche. En el estudio a corto plazo, las ratas fueron asignadas al azar para recibir (n = 10/grupo) un tratamiento con FT011 (100 mg/kg BID, sonda) o vehículo durante 8 semanas. Los animales no diabéticos (n = 10) sirvieron como testigos. En el estudio a largo plazo, a las 16 semanas de diabetes STZ, las ratas fueron asignadas al azar para un tratamiento (n = 15/grupo) con FT011 (50 mg/kg/día BID), FT011 (100 mg/kg BID) o sin tratamiento durante 16 semanas adicionales. Los animales no diabéticos (n = 15) sirvieron como testigos. Cada semana, ratas se pesaron y se midieron sus niveles de glucosa en sangre (Accu-check Advantage II Blood Glucose Monitor, Roche Diagnostics, EE.UU.) y solamente los animales tratados con STZ con glucosa en sangre >15 mmol/l fueron considerados diabéticos. Cada 4 semanas, se determinó el SBP en ratas conscientes precalentadas a través de pletismografía de conducto en la cola utilizando un controlador de la presión sanguínea no invasivo (NIBP) y Powerlab (AD Instruments, NSW, Australia). La hemoglobina A1c (HbA1c) se midió mediante HPLC al final del estudio en el Departamento de Patología del Hospital St. Vincent. Las ratas diabéticas recibieron una inyección diaria de insulina (2-4 unidades por vía intraperitoneal; Humulin NPH, Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN) para reducir la mortalidad y favorecer la ganancia de peso.

#### Leucostasis (estudio a corto plazo)

20 Al final del estudio de 8 semanas a corto plazo, las ratas fueron anestesiadas con Lethobarb (60 mg/kg) y se abrió la cavidad pectoral. Los animales fueron perfusionados a través del ventrículo izquierdo con solución salina tamponada con fosfato (PBS) 0,1 M para eliminar las células sanguíneas no adherentes. Las ratas seguidamente fueron perfusionadas con Concanavalina A acoplada a rodamina (25 mg/kg, Vector Laboratories) para teñir los leucocitos del endotelio y adherentes. Los ojos fueron enucleados y fijados con paraformaldehído al 4% en PBS 0,1 M durante 30 minutos. Las retinas fueron diseccionadas y dispuestas horizontalmente en portaobjetos de microscopio y seguidamente se visualizaron en un microscopio epifluorescente. Se hizo un recuento del número total de leucocitos por retina. El investigador estaba oculto para el grupo.

#### PCR en tiempo real (estudio a corto plazo)

30 Al final del estudio de 8 semanas a corto plazo, las ratas fueron anestesiadas con Lethobarb (60 mg/kg), los ojos fueron enucleados y las retinas se diseccionaron y se colocaron en RNAlater (# R0901, Sigma-Aldrich). El RNA total se extrajo con un estuche de ensayo RNeasy Mini (# 74104, Qiagen) según las instrucciones del fabricante. La concentración de RNA se determinó en un dispositivo Nanodrop 3.1.2, después de lo cual 1 µg de RNA fue tratado con DNAasa (estuche exento de DNA, Ambion) y se sometió a transcripción inversa (estuche de ensayo de síntesis First Strand cDNA para RT-PCR, Roche). se mezclaron cebadores, sondas (véase la tabla) y el cDNA con mezcla maestra universal Taqman (nº 4304437, Applied Biosystems) y la PCR en tiempo real se realizó utilizando un sistema de detección de secuencias ABI 7900 HT (Applied Biosystems). El mRNA fue normalizado respecto a testigo endógeno de 18S rRNA y se calculó la diferencia en veces relativas utilizando el método  $2^{-\Delta\Delta CT}$ .

#### Cebador y sonda para ICAM-1

Gen	Especies	Número de acceso	Cebadores y sonda Taqman (MGB, etiqueta FAM)
ICAM1	rata	NM_012967	Cebador directo: AGTGCTGTACCATGATCAGAATACCT
			Sonda: TGA TCATTGCGGGCT
			Cebador inverso: TAAATGGACGCCACGATCAC
18S	eucariota	X03205.1	Ensayo de expresión génica de Applied Biosystems - testigo endógeno - etiqueta VIC

40 Digesto de tripsina (estudio a largo plazo de 32 semanas)

Al final del estudio de 32 semanas a largo plazo, las ratas fueron anestesiadas con Lethobarb (60 mg/kg) y seguidamente los ojos fueron enucleados y fijados en Carsons Fixative al 2% durante una noche. Las retinas fueron diseccionadas y lavadas con tampón Tris 0,2 M (pH 8,0), seguido de digestión en tripsina al 1% (# T4799, Sigma-Aldrich) en tampón Tris 0,2 M a 37 °C durante una hora. Las retinas seguidamente se incubaron en Triton X al 1% en tampón Tris 0,2 M durante aproximadamente una hora. Posteriormente, las retinas se dispusieron horizontalmente en un portaobjetos de microscopio y se secaron durante una noche. Los portaobjetos se tiñeron con tinción de Schiff de ácido peryódico para observar las capilaridades acelulares.

La cuantificación se realizó mediante barrido de la retina completa con un objetivo de 10x en un sistema de microscopio Zeiss Observer. Se colocaron campos aleatorios de 600 µm x 800 µm sobre la retina completa usando Adobe Photoshop CS2. Se hizo un recuento de las capilaridades acelulares por campo con 10 retinas por grupo cuantificadas. Los investigadores estaban ocultos para el grupo. Los datos se analizaron como un promedio de capilaridades acelulares por campo.

Estadística

Se realizaron estadísticas usando el ensayo de Shapiro Wilkinson para la normalidad. Se realizó un ensayo de Krukal-Wallis seguido del ensayo Mann Whitney U para la relevancia estadística de datos no paramétricos.

Resultados

Tabla 1. Características de los animales (estudio de 8 semanas)

Grupo	Peso corporal (g)	SBP (mm de Hg)	HbA1C (%)
Testigo	289 ± 4	179 ± 8	3,7 ± 0,06
Diabetes	274 ± 6	217 ± 10*	11 ± 0,19**
Diabético + FT011 (200 mg/kg/día)	278 ± 12	190 ± 14	8,9 ± 0,50 #
*P <0,05 y **P <0,01 frente a testigo; #P <0,05 frente a diabetes sin tratar			

Tabla 2. Características de los animales (estudio de 32 semanas),

Grupo	Peso corporal (g)	SBP (mm de Hg)	HbA1C (%)
Testigo	353 ± 11	152 ± 7	5,4 ± 0,5
Diabetes	324 ± 7	160 ± 8	8,4 ± 0,29*
Diabético + FT011 (100 mk/kg/día)	322 ± 8	176 ± 10	7,65 ± 0,25 *
Diabético + FT011 (200 mk/kg/día)	313 ± 9	170 ± 7	6,58 ± 0,37
*P <0,05 frente a testigo; #P <0,05 frente a diabetes sin tratar			

La figura 1 demuestra que el número total de leucocitos en la retina del estudio a corto plazo era significativamente menor en ratas diabéticas tratadas con FT011 en comparación con ratas diabéticas sin tratar.

Las micrografías representativas en la figura 2 muestran que en ratas diabéticas (B) se observaron numerosos leucocitos en las capilaridades (indicadas con flechas) en comparación con el testigo (A) y el tratamiento con FT011 redujo significativamente la leucostasis (C).

La figura 3 muestra que hubo un aumento en los niveles de mRNA de ICAM-1 en ratas diabéticas en comparación con los testigos. Además, el tratamiento con FT011 estaba asociado con una reducción en los niveles de mRNA de ICAM-1.

En la figura 4 se hizo una evaluación cuantitativa de capilaridades acelulares haciendo un recuento del número de capilaridades en secciones retinales teñidas con PAS a partir del estudio a largo plazo. Claramente, hubo menos capilaridades acelulares en ratas diabéticas tratadas con FT011 en comparación con ratas diabéticas sin tratar.

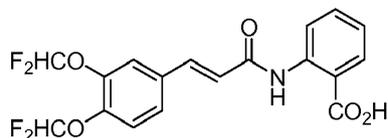
Las micrografías representativas en la figura 5 muestran que en ratas diabéticas (B) se observaron capilaridades

acelulares (pericito fantasma) (flecha), mientras que no había evidencia de pericitos fantasmas en el testigo (A) y en las ratas diabéticas tratadas con FT011 (C).

#### Ejemplo 2

Compuesto del ensayo (FT061)

- 5 El ácido (E)-2 [[3,4-bis(difluorometoxi)fenil-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (FT061) tiene la estructura:



#### Ratas con retinopatía diabética

- 10 Sesenta ratas heterocigóticas (mRen-2)27 hembra de seis semanas de edad (St. Vincent's Hospital Animal House, Melbourne, Australia) fueron destinadas a recibir 55 mg/kg de estreptozotocina (STZ) (Sigma, St. Louis, EE.UU.) diluida en tampón de citrato 0,1 M, pH 4,5 o tampón de citrato solo (testigo no diabético) mediante inyección en vena de la cola seguida de un ayuno durante una noche. Las ratas fueron destinadas aleatoriamente a recibir (n = 15/grupo) un tratamiento con FT061 (100 mg/kg/día, sonda) o vehículo durante 8 semanas. Los animales no diabéticos (n = 15) sirvieron como testigos. Cada semana, las ratas se pesaron y se midieron sus niveles de glucosa en sangre (Accu-check Advantage II Blood Glucose Monitor, Roche Diagnostics, EE.UU.) y solamente los animales
- 15 tratados con STZ con glucosa en sangre >15 mmol/l se consideraron diabéticos. Cada 4 semanas, se determinó el SBP en ratas conscientes precalentadas a través de pletoisografía por conducto en cola usando un controlador de presión sanguínea no invasiva (NIBP) y Powerlab (AD Instruments, NSW, Australia). Las ratas diabéticas recibieron una inyección diaria de insulina (2-4 unidades por vía intraperitoneal; Humulin NPH, Eli Lilly and Co., Indianapolis, IN) para reducir la mortalidad y favorecer la ganancia de peso.

#### 20 Leucostasis

- Al final del estudio, las ratas fueron anestesiadas con Lethobarb (60 mg/kg) y se abrió la cavidad pectoral. Los animales fueron perfusionados a través del ventrículo izquierdo con solución salina tamponada con fosfato (PBS) 0,1 M para separar células sanguíneas no adherentes. Las ratas seguidamente fueron perfusionadas con Concanavalina A acoplada a rodamina (25 mg/kg, Vector Laboratories) para teñir leucocitos en el endotelio y adherentes. Los ojos fueron enucleados y fijados con paraformaldehído al 4% en PBS 0,1 M durante 30 minutos. Las retinas fueron diseccionadas y dispuestas horizontalmente en portaobjetos de microscopio y seguidamente fueron visualizadas sobre un microscopio epifluorescente. Se hizo un recuento del número total de leucocitos por retina. El investigador estaba oculto para el grupo.

#### PCR en tiempo real

- 30 Al final del estudio, las ratas fueron anestesiadas con Lethobarb (60 mg/kg), los ojos fueron enucleados y las retinas diseccionadas y colocadas en RNAlater (# R0901, Sigma-Aldrich). El RNA total se extrajo con un estuche de ensayo RNeasy Mini (# 74104, Qiagen) según las instrucciones del fabricante. La concentración de RNA se determinó en un dispositivo Nanodrop 3.1.2, después de lo cual 1 µg de RNA fue tratado con DNase (estuche de ensayo exento de DNA, Ambion) y sometido a transcripción inversa (estuche de ensayo First Strand cDNA Synthesis Kit para RT-PCR, Roche). Los cebadores, sondas (véase la tabla) y cDNA se mezclaron con un mezclador Taqman Universal Master Mix (# 4304437, Applied Biosystems) y se realizó una PCR en tiempo real usando un sistema de detección de secuencias ABI 7900 HT (Applied Biosystems). El mRNA fue normalizado respecto a testigo endógeno de 18S rRNA y se calculó la diferencia en veces relativa de expresión usando el método  $2^{-\Delta\Delta CT}$ .

#### Cebador y sonda para ICAM-1 y VEGF

Gen	Especie	Número de acceso	Cebadores y sonda Taqman (MGB, etiqueta FAM)
ICAM1	rata	NM_012967	Cebador directo: AGTGCTGTACCATGATCAGAATACCT
			Sonda: TGA TCATTGCGGGCT
			Cebador inverso: TAAATGGACGCCACGATCAC
VEGF	rata	NM_031836.2	Ensayo de expresión génica de Applied Biosystems - etiqueta FAM

Gen	Especie	Número de acceso	Cebadores y sonda Taqman (MGB, etiqueta FAM)
		NM_001110333.1	
		NM_001110334.1	
18S	eucariota	X03205.1	Ensayo de expresión génica de Applied Biosystems - testigo endógeno - etiqueta VIC

Estadísticas

Se realizaron estadísticas usando el ensayo de Shapiro Wilkinson para la normalidad. Se realizó un ensayo de Krukal-Wallis seguido de un ensayo de Mann Whitney U para la relevancia estadística de datos no paramétricos.

5 Resultados

Tabla 1. Características de los animales

Grupo	Peso corporal (g)	SBP (mm de Hg)
Testigo	308 ± 8	192 ± 6
Diabetes	292 ± 10	201 ± 10
Diabético + FT061	282 ± 4	178 ± 4
#P <0,05 frente a testigo		

La figura 6 demuestra que el número total de leucocitos en la retina era significativamente menor en ratas diabéticas tratadas con FT061 en comparación con ratas diabéticas sin tratar.

10 Las microfotografías representativas en la figura 7 muestran que en ratas diabéticas (B) se observaron numerosos leucocitos en las capilaridades (indicados con flechas) en comparación con el testigo (A) y el tratamiento con FT061 redujo significativamente la leucostasis (C).

15 La figura 8 ilustra una evaluación de PCR en tiempo real cuantitativa de los niveles de mRNA de ICAM-1 retinal. La figura 8 muestra que hubo un aumento en los niveles de mRNA de ICAM-1 en ratas diabéticas en comparación con los testigos. Además, el tratamiento con FT061 estuvo asociado con una reducción de los niveles de mRNA de ICAM-1 en comparación con testigos y diabetes sin tratar.

En la figura 9 una valoración cuantitativa de PCR en tiempo real de los niveles de mRNA de VEGF retinal mostró que el tratamiento con FT061 estuvo asociado con una reducción de los niveles de mRNA de VEGF en comparación con testigos y diabetes sin tratar.

20 Naturalmente, se apreciará que lo que antecede se ha sido proporcionado solo a modo de ejemplo ilustrativo de la invención y que la totalidad de las modificaciones y variaciones que sean evidentes para un experto en la técnica se considera que caen dentro del alcance amplio y el ámbito de la invención, como se expone en la presente memoria descriptiva.

**Referencias**

25 Adamis, A. P. (2002). "Is diabetic retinopathy an inflammatory disease?" Br J Ophthalmol 86(4): 363-5.

Aiello, L. M. (2003). "Perspectives on diabetic retinopathy." Am J Ophthalmol 136(1): 122-35.

Arita, R., Y. Hata, et al. "ROCK as a Therapeutic Target of Diabetic Retinopathy." J Ophthalmol 2010: 175163.

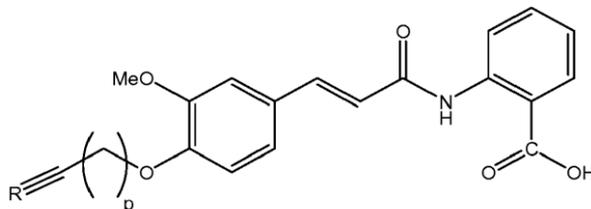
Cheung, A. K., M. K. Fung, et al. (2005). "Aldose reductase deficiency prevents diabetes-induced blood-retinal barrier breakdown, apoptosis, and glial reactivation in the retina of db/db mice." Diabetes 54(11): 3119-25.

30 Joussen, A. M., V. Poulaki, et al. (2004). "A central role for inflammation in the pathogenesis of diabetic retinopathy." Faseb J 18(12): 1450-2.

- Joussen, A. M., V. Poulaki, et al. (2002). "Nonsteroidal anti-inflammatory drugs prevent early diabetic retinopathy via TNF-alpha suppression." *Faseb J* 16(3): 438-40.
- 5 Joussen, A. M., V. Poulaki, et al. (2002). "Retinal vascular endothelial growth factor induces intercellular adhesion molecule-1 and endothelial nitric oxide synthase expression and initiates early diabetic retinal leukocyte adhesion in vivo." *Am J Pathol* 160(2): 501-9.
- Khalfaoui, T., G. Lizard, et al. (2009). "Immunohistochemical analysis of cellular adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1) and VEGF in fibrovascular membranes of patients with proliferative diabetic retinopathy: preliminary study." *Pathol Biol (Paris)* 57(7-8): 513-7.
- 10 Klein, R., B. E. Klein, et al. (2004). "The relation of retinal vessel caliber to the incidence and progression of diabetic retinopathy: XIX: the Wisconsin Epidemiologic Study of Diabetic Retinopathy." *Arch Ophthalmol* 122(1): 76-83.
- Santos, K. G., B. Tschiedel, et al. (2005). "Prevalence of retinopathy in Caucasian type 2 diabetic patients from the South of Brazil and relationship with clinical and metabolic factors." *Braz J Med Biol Res* 38(2): 221-5.
- Sarlos, S., B. Rizkalla, et al. (2003). "Retinal angiogenesis is mediated by an interaction between the angiotensin type 2 receptor, VEGF, and angiopoietin." *Am J Pathol* 163(3): 879-87.
- 15 Watkins, P. J. (2003). "Retinopathy." *Bmj* 326(7395): 924-6.
- Zammit, S. C., A. J. Cox, et al. (2009). "Evaluation and optimization of antifibrotic activity of cinnamoyl anthranilates." *Bioorg Med Chem Lett* 19(24): 7003-6.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula 4



5

Fórmula 4

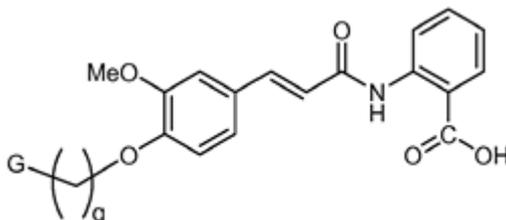
para ser usado en el tratamiento de una enfermedad ocular asociada con inflamación y/o proliferación vascular en un sujeto;

10 en que la enfermedad ocular se selecciona entre el grupo que comprende retinopatía diabética, edema corneal, uveítis anterior y posterior, pterigión, enfermedades corneales, ojo seco, conjuntivitis, exudación inducida por alergia y láser, degeneración macular no relacionada con la edad, edema macular, degeneración macular relacionada con la edad y enfermedad ocular de von Hippel-Lindau;

en la que p es un número entero entre 1 y 10; y R se selecciona entre el grupo que consiste en H y alquilo de C<sub>1</sub> a C<sub>10</sub>;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 2. Un compuesto de fórmula 6



Fórmula 6

20 para ser usado en el tratamiento de una enfermedad ocular asociada con inflamación y/o proliferación vascular en un sujeto;

en el que la enfermedad ocular se selecciona entre el grupo que comprende retinopatía diabética, edema corneal, uveítis anterior y posterior, pterigión, enfermedades corneales, ojo seco, conjuntivitis, exudación inducida por alergia y láser, degeneración macular no relacionada con la edad, edema macular, degeneración macular relacionada con la edad y enfermedad ocular de von Hippel-Lindau;

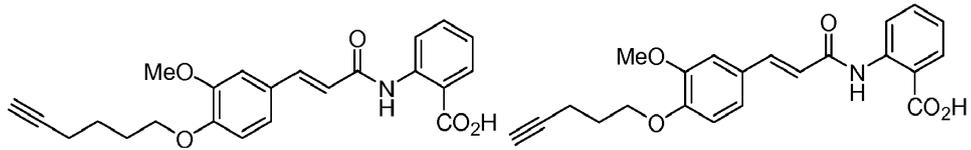
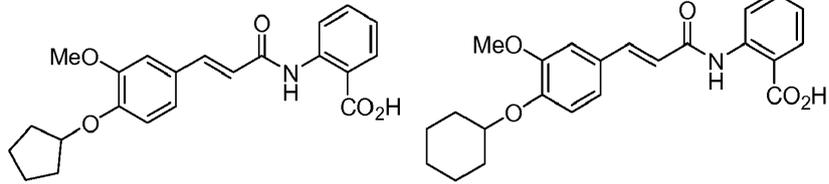
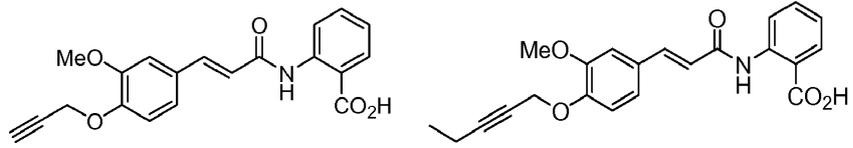
25 en la que G es un anillo de ciclopentilo, un anillo de ciclohexilo o un anillo de 1,2,3-triazol 1,4-disustituido; y

q es un número entero entre 0 y 6;

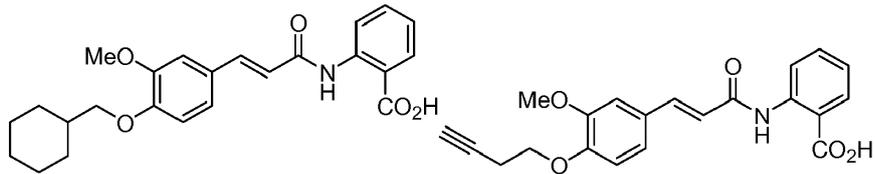
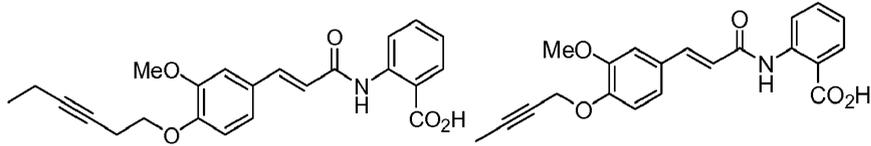
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. El compuesto para ser usado según la reivindicación 1 o 2, en que el compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en:

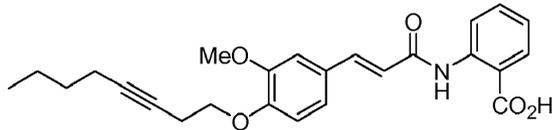
30



5



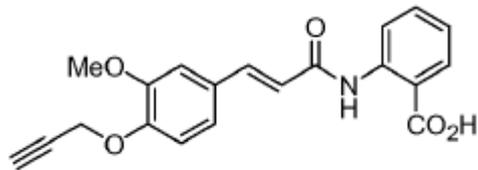
10



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

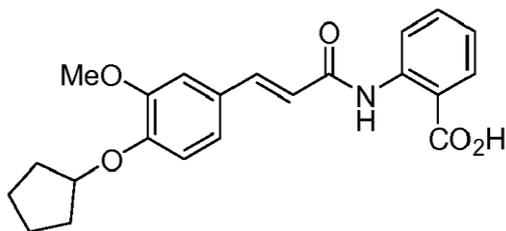
4. El compuesto para ser usado según la reivindicación 1, en que el compuesto tiene la fórmula

15



20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

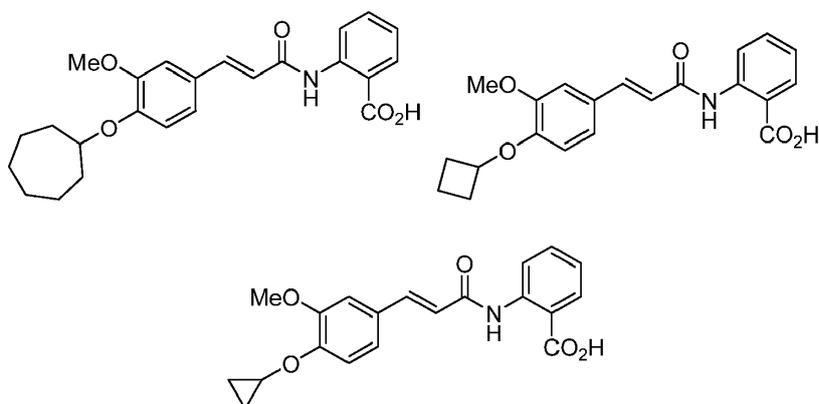
5. El compuesto para ser usado según la reivindicación 2, en que el compuesto tiene la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

6. Un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en:

5



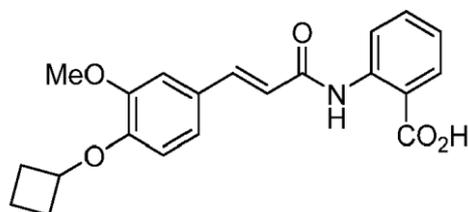
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

10 para ser usado en el tratamiento de una enfermedad ocular asociada con inflamación y/o proliferación vascular en un sujeto;

en que la enfermedad ocular se selecciona entre el grupo que comprende retinopatía diabética, edema corneal, uveítis anterior y posterior, pterigión, enfermedades corneales, ojo seco, conjuntivitis, exudación inducida por alergia y láser, degeneración macular no relacionada con la edad, edema macular, degeneración macular relacionada con la edad y enfermedad ocular de von Hippel-Lindau.

15

7. El compuesto para ser usado según la reivindicación 6, en que el compuesto tiene la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 8. El compuesto para ser usado según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en que la enfermedad corneal está provocada por una infección a partir de un microbio o microorganismo.

9. El compuesto para ser usado según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en que el tratamiento de la enfermedad ocular incluye inhibir el progreso de la enfermedad ocular, prevenir la enfermedad ocular y/o mejorar un síntoma de la enfermedad ocular.

10. El compuesto para ser usado según la reivindicación 5 o 7, en que la enfermedad ocular es retinopatía diabética.

11. El compuesto para ser usado según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en que la enfermedad ocular es degeneración macular relacionada con la edad.
12. El compuesto para ser usado según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en que la enfermedad ocular es degeneración macular no relacionada con la edad.
- 5 13. El compuesto para ser usado según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en que la enfermedad ocular es edema macular.
14. El compuesto para ser usado según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en que la enfermedad ocular es ojo seco.
- 10 15. El compuesto para ser usado según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en que el compuesto es formulado para una administración oral.

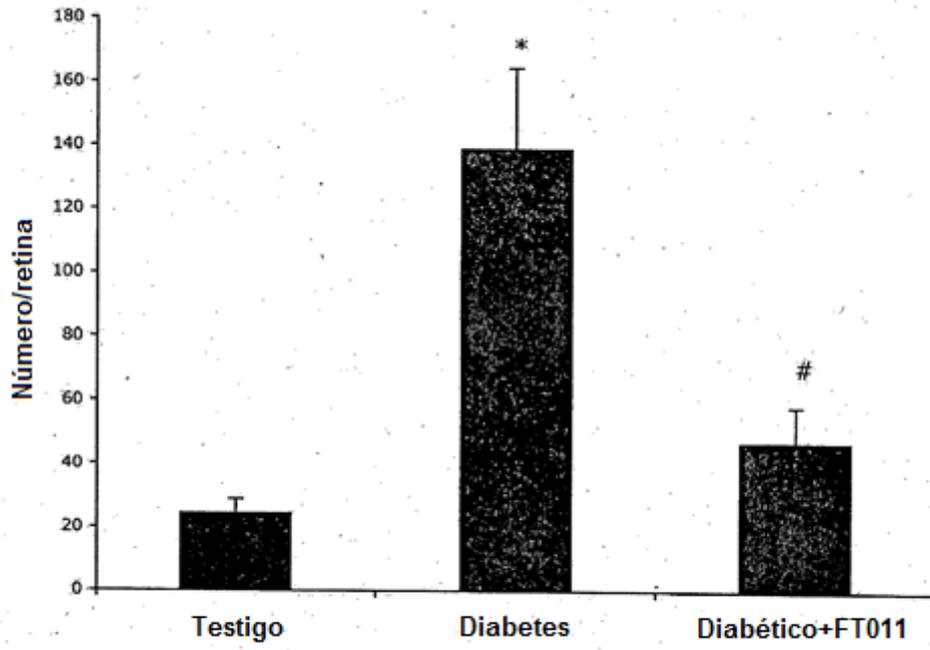


Figura 1

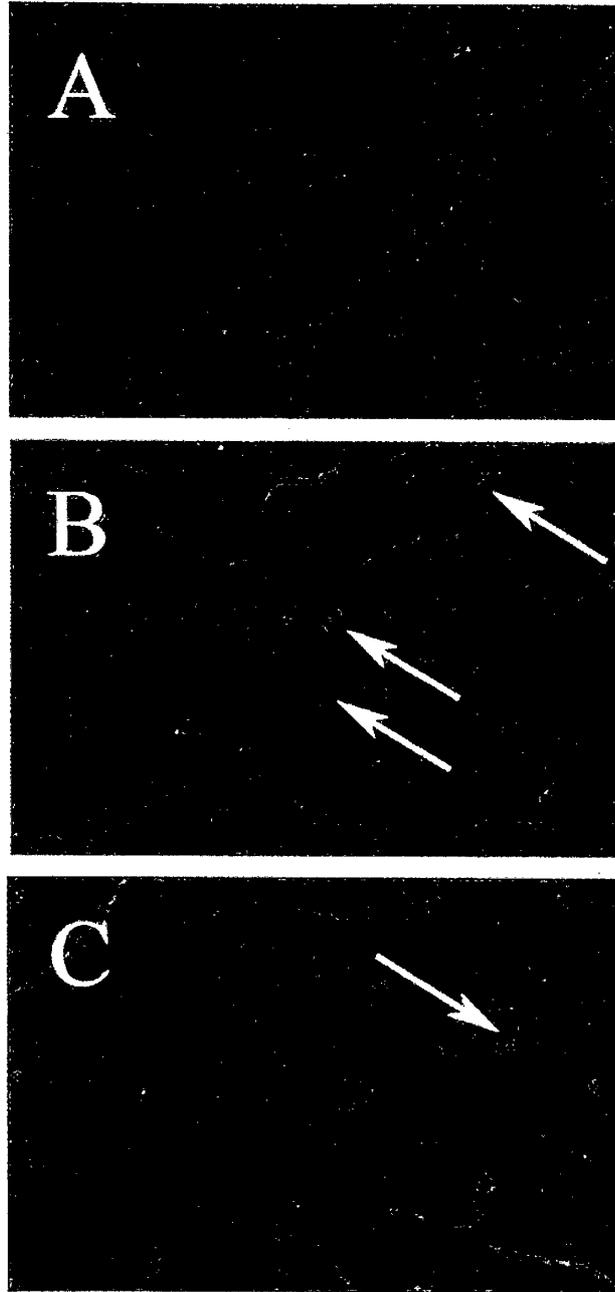


Figura 2

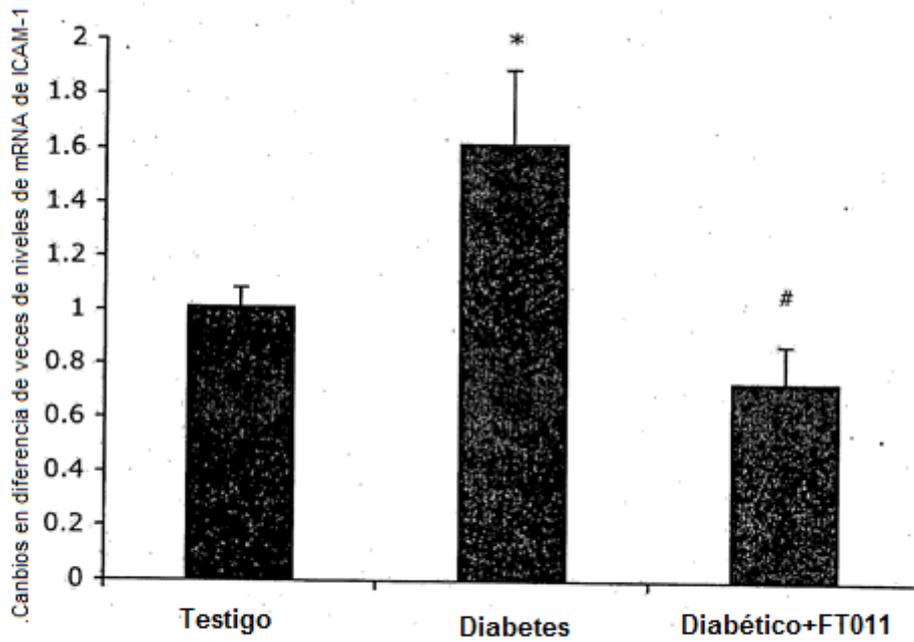


Figura 3

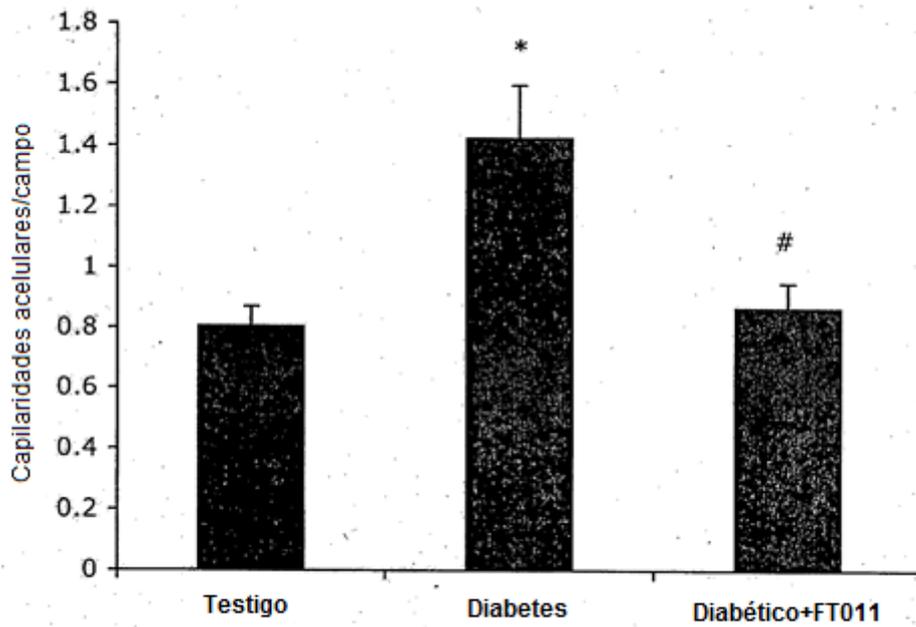


Figura 4



Figura 5

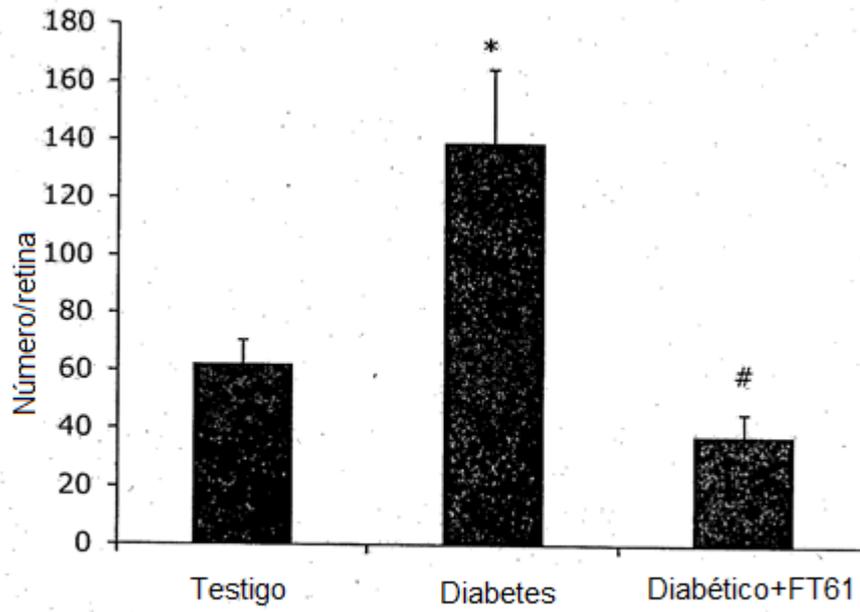


Figura 6

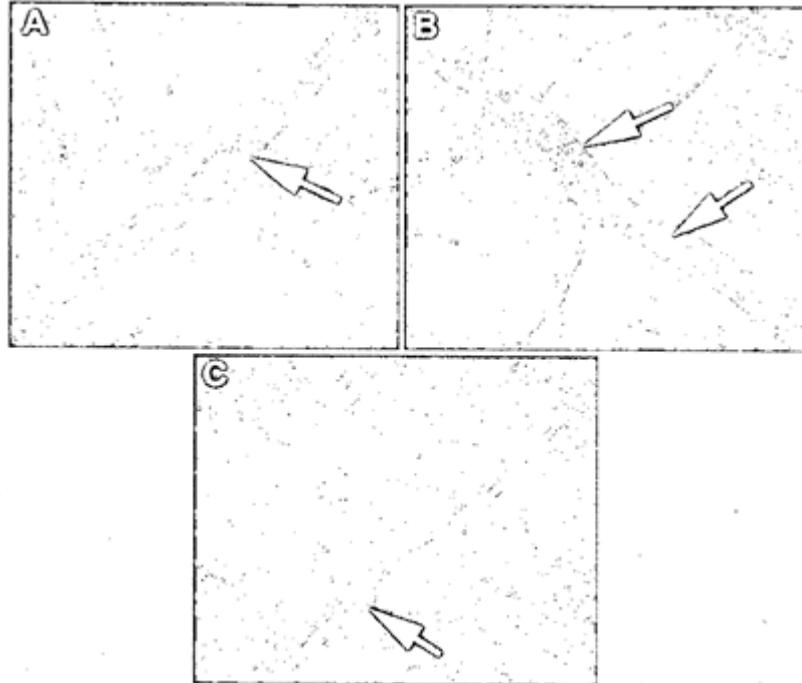


Figura 7

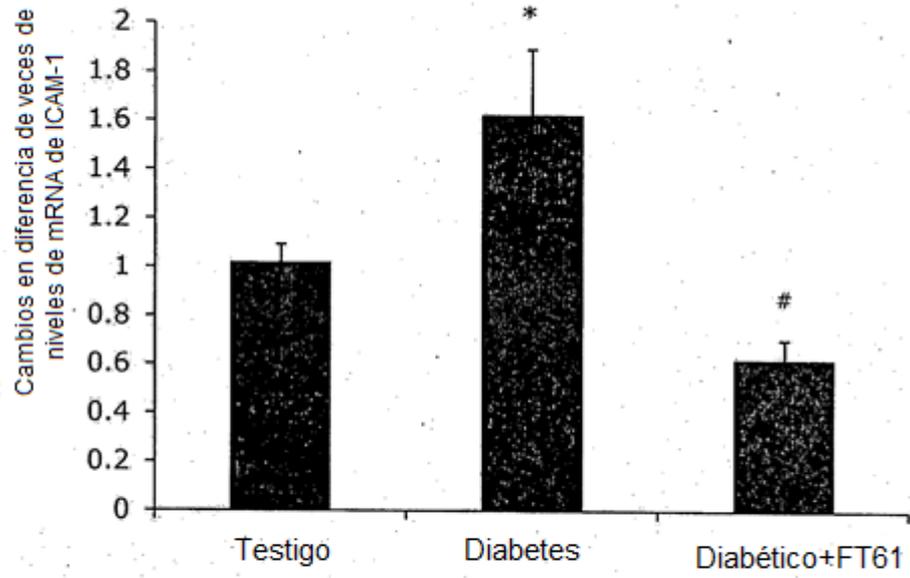


Figura 8

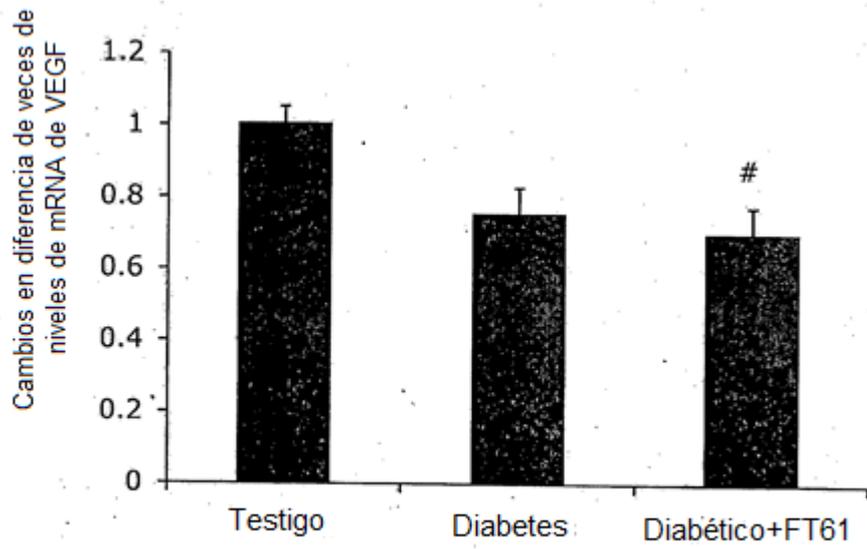


Figura 9