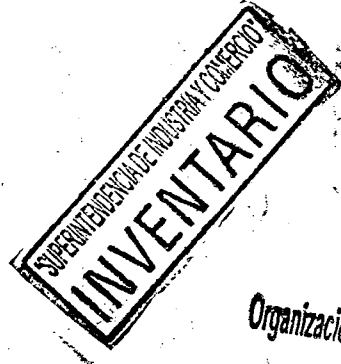




Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA



Organizacion CSA Ltda

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

PCT

NOV
27

07-110389

21. EXPEDIENTE No.

54. TITULO "MÉTODOS, COMPOSICIONES Y FORMULACIONES
PARA EVITAR O REDUCIR EFECTOS ADVERSOS
EN UN PACIENTE"

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL A61K 31/70

71. SOLICITANTE PERICOR THERAPEUTICS, INC.

DOMICILIO New York, Estado de New York, Estados
Unidos de América.

74. REPRESENTANTE LEGAL ALICIA LLOREDA RICAURTE
T.P. 53.215

22. BOGOTA, D.C. 19 OCT 2007

(FORMA P. 10)

PETITORIO



SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-110389-00000-0000

Fecha: 2007-10-19 16:24:47
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACIONE
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 449

FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE PCT ENTRADA EN FASE NACIONAL

① **SOLICITUD DE:**

☒ Patente de Invención ☐ Patente de Modelo de Utilidad

☒ Capítulo I. ☐ Capítulo II.

② **SOLICITANTE (71)**

Nombre: **PERICOR THERAPEUTICS, INC.**

Dirección: 350 Fifth Avenue, 59th Floor New York, NY 10118, Estados Unidos de América.

Nacionalidad o Domicilio: New York, Estado de New York, Estados Unidos de América.

Lugar de Constitución:

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número _____

③ **REPRESENTANTE O APODERADO**

Nombre: **ALICIA LLOREDICA RICAURTE**

Dirección: Calle 72 No. 5-83 Piso 5°, Bogotá- Colombia

Teléfono: 3264270 Fax: 6069701

E-mail: jllcco@lloredacamacho.com

C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐

Cual _____

Número 39.690.13 TP 53.215

④ **INVENTOR(ES) (72)**

Nombre: **MANGANO, Dennis, T.**

Dirección: 30 Geneva Road, Hillsborough, California 94010.

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos de América.

⑤ **PCT (86)**

Solicitud Internacional No. PCT/US2006/011422 Fecha: 28/03/06

Publicación Internacional No. WO 2006/105167 A3 Fecha: 05/10/06

⑥ **Título (54) MÉTODOS, COMPOSICIONES Y FORMULACIONES PARA EVITAR O REDUCIR EFECTOS ADVERSOS EN UN PACIENTE**

⑦ **Clasificación Internacional (51) A61K 31/70**

Prioridad	(33) País de Origen	(32) Fecha	(31) Número de Solicitud
SI ☒ NO ☐	US	28.03.2005	60/666,071

Comprobante de Pago No. 07-77,458 Fecha: 25 de Septiembre de 2007

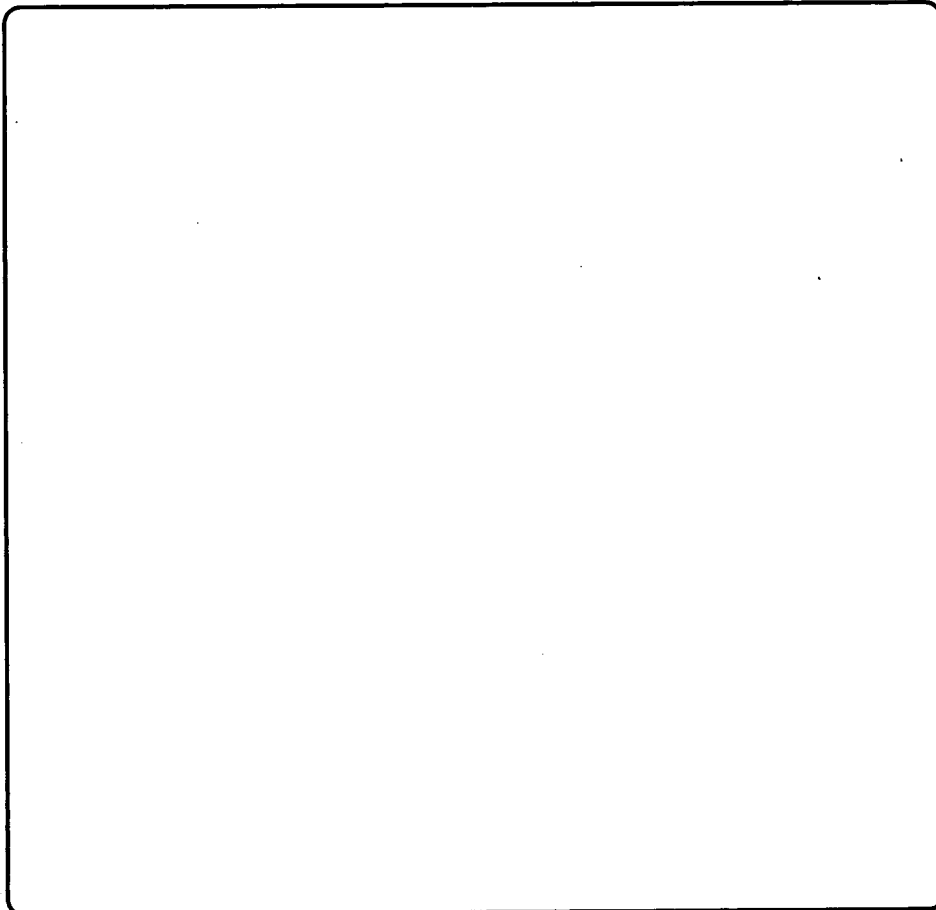
10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☐ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☐ Documento de Representación Legal (Poder GlaxoSmithKline Biologicals S,A.).
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones.
- ☐ Copia de la solicitud internacional. (resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (resumen, descripción, reivindicaciones y dibujos)
- ☐ Copia del examen preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☐ Traducción del examen preliminar internacional sobre patentabilidad.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ Arte Final 12X12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionados parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros: Reporte de Búsqueda Internacional con su traducción, Publicación con su traducción y Notificación Registro de un cambio con su traducción.

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE ALICIA LLOREDA RICAURTE

FIRMA:

[Handwritten signature]

C.C. 39.690.713 Usaquén

T.P. 53.21

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-110389- -00000-0000

Fecha: 2007-10-19 16:24:47

Dep. 2020 NUECREACIONE

Tra. 11 PATENTEIYII

Eve: 378 FASENACIONALI

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 449

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 07 - 77,458

FECHA : SEPTIEMBRE 25 DE 2007

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	47999507	25/09/2007	5,800,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	482,000.00
		TOTAL :	\$ 482,000.00

SON: CUATROCIENTOS OCHENTA Y DOS MIL PESOS

RESPONSABLE :

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

(21) N° de solicitud:				(51) Int Cl:	A61K 31/70
22) Fecha de solicitud: 19-10-07				(71) Solicitante(s)	PERICOR THERAPEUTICS, INC.
(30) Prioridad	(31) No. Prioridad	32) Fecha	(33) País	(72) Inventor(es)	MANGANO, Dennis, T.
	60/666,071	28-03-05	US	(74) Apoderado:	ALICIA LLOREDA RICAURTE
(85) Fecha limite inicio fase nacional: 28-10-07				(87) Publicación internacional	
(86) Datos relativos a la presentación de la solicitud PCT				Fecha: 05-10-06	
Fecha de presentación de la solicitud: 28-03-06				N° publicación: WO2006/105167 A3	
No. de solicitud PCT/ US2006/011422					
(54) Titulo: MÉTODOS, COMPOSICIONES Y FORMULACIONES PARA EVITAR O REDUCIR EFECTOS ADVERSOS EN UN PACIENTE					

Resumen - Reivindicación(es):

Reivindicación número 11.-

Una formulación farmacéutica que comprende acadesina, o su profármaco, análogo, o sal, y al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, en donde la formulación proporciona a un paciente que requiere una concentración de plasma en la sangre de acadesina de entre aproximadamente 1 μ g/ml a 20 μ g/ml por un periodo de aproximadamente siete horas, la formulación farmacéutica se adapta para hacer lipofílica la formulación.

REPORTE DE BUSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud Internacional No.
 PCT/US06/11422

A. CLASIFICACION DE MATERIA

CPI (8): **A61K 31/70** (2006.01), **31/7056** (2006.01)
 USPC: 514/43, 42;536/22.1

Según la Clasificación de Patentes Internacional (CPI) o según la clasificación nacional y la CPI

B. CAMPOS BUSCADOS

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de símbolos de clasificación)

U.S.:514/43, 42;536/22.1

Documentación buscada fuera de documentación mínima hasta donde dichos documentos se incluyan en los campos buscados

Base de datos electrónica consultada durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, donde sea práctico, buscar términos usados)

STN Base de datos en línea

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría °	Citación de documento, con indicación, donde sea apropiado, de los textos relevantes	Relevante a la reivindicación No.
X	RESUMEN STN: ACCESO NO.: 86017127 MEDLINE; DOCUMENTO NO.: PubMed ID: 4048260; TITULO: Efectos protectores de AI caribosida en corazón de gato globalmente isquémico aislado; AUTOR: MITSOS y col.; Pharmacology, (1985) Vol. 31, No. 3, páginas 121-131; ver resumen.	1,38
X	RESUMEN STN: ACCESO NO. 94152838 MEDLINE; DOCUMENTO NO. PubMed ID: 7818622; TITULO: Un ensayo inicial multicentro, aleatorio controlado acerca de la seguridad y eficacia de acadesina en pacientes que experimentan una cirugía de injerto bypass de arteria coronaria, SPI research Group.; AUTOR: LEUNG y col.; Anesthesia and analgesia, (1994 Marzo) Vol. 78, No. 3, páginas 420-434; ver resumen	1-6, 10, 29-34, 37, 39-45
X	US 4,575,498 A (HOLMES y col) 11 de marzo de 1986 (11.03.1986), col 1, líneas 54-63 y patente completa.	49, 51
A	US 5,082,829 (GRUBER y col) 21 de junio de 1992 (21.06.1992), ver patente completa.	1-85

☐ En el recuadro C se enumeran más documentos.

☐ En el anexo se enumeran miembros de la familia de patentes.

° Categorías especiales de documentos citados:

'A' documento que define el estado general de la técnica el cual no se considera de relevancia

'E' documento anterior pero publicado en o después de la fecha de presentación internacional

'L' documento que puede arrojar dudas sobre reivindicaciones de prioridad o que se cita para establecer la fecha de publicación de otra citación u otra razón especial (según se especifica)

'O' documento que se refiere a una revelación oral, uso, exhibición u otros medios

'P' documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero después de la fecha de prioridad reivindicada

'T' documento posterior publicado después de la fecha de presentación internacional o fecha de prioridad y que no está en conflicto con la solicitud pero citado para entender el principio o teoría que sustenta la invención

'X' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se toma solo

'Y' documento de relevancia particular; la invención reivindicada no puede considerarse que comprende un paso inventivo cuando el documento se combina con uno o más documentos, siendo dicha combinación obvia para una persona experta en la técnica

'&' documento miembro de la misma familia de patentes

Fecha de la terminación real de la búsqueda internacional

26 de diciembre 2006 (26.12.2006)

Fecha de envío por correo del reporte de búsqueda internacional

29 ENE 2007

Nombre y dirección de correo de ISA/US
 Mail Stop PCT, Attn: ISA/US
 Comisionado de Patentes
 P.O. Box 1450
 Alexandria, Virginia 22313-1450
 Facsimile No. (571) 273-3201

Funcionario autorizado

Michael C. Henry

Teléfono No. 703 308-1235

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US06/11422

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8): A61K 31/70(2006.01),31/7056(2006.01) USPC: 514/43,42;536/22.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC																										
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 514/43, 42; 536/22.1 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) STN Database Online																										
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT																										
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.																								
X	STN ABSTRACT: ACCESSION NO.: 86017127 MEDLINE; DOCUMENT NO.: PubMed ID: 4048260; TITLE: Protective effects of AICariboside in the globally ischemic isolated cat heart; AUTHOR: MITSOS et al.; Pharmacology, (1985) Vol. 31, No. 3, pages 121-131; see abstract.	1, 38																								
X	STN ABSTRACT: ACCESSION NO.: 94152838 MEDLINE; DOCUMENT NO.: PubMed ID: 7818622; TITLE: An initial multicenter, randomized controlled trial on the safety and efficacy of acadesine in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery. SPI research Group.; AUTHOR: LEUNG et al.; Anesthesia and analgesia, (1994 March) Vol. 78, No. 3, pages 420-434; see abstract	1-6, 10, 29-34, 37, 39-45																								
X	US 4,575,498 A (HOLMES et al) 11 March 1986 (11.03.1986), col 1, lines 54-63 and entire patent.	49, 51																								
A	US 5,082,829 (GRUBER et al) 21 June 1992 (21.06.1992), see entire patent.	1-85																								
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.																										
<table border="0"><tr><td colspan="2">* Special categories of cited documents:</td><td>"T"</td><td>later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</td></tr><tr><td>"A"</td><td>document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</td><td>"X"</td><td>document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</td></tr><tr><td>"E"</td><td>earlier application or patent published on or after the international filing date</td><td>"Y"</td><td>document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</td></tr><tr><td>"L"</td><td>document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</td><td>"&"</td><td>document member of the same patent family</td></tr><tr><td>"O"</td><td>document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</td><td></td><td></td></tr><tr><td>"P"</td><td>document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</td><td></td><td></td></tr></table>			* Special categories of cited documents:		"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention	"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone	"E"	earlier application or patent published on or after the international filing date	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art	"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&"	document member of the same patent family	"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means			"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
* Special categories of cited documents:		"T"	later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention																							
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone																							
"E"	earlier application or patent published on or after the international filing date	"Y"	document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art																							
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&"	document member of the same patent family																							
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means																									
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed																									
Date of the actual completion of the international search 26 December 2006 (26.12.2006)		Date of mailing of the international search report 29 JAN 2007																								
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201		Authorized officer Michael C. Henry Telephone No. 703 308-1235																								

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA SEGÚN EL TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de Propiedad Intelectual
Oficina Internacional



(43) Fecha de Publicación Internacional
5 de Octubre de 2006 (05.10.2006)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional
WO 2006/105167 A3

(51) Clasificación Internacional de Patentes⁷:

A61K 31/70 (2006.01) A61K 31/7056(2006.01)

(21) Número de Solicitud Internacional: PCT/US2006/011422

(22) Fecha de Registro Internacional: 28 de Marzo de 2006
(28.03.2006)

(25) Idioma de registro: Inglés

(26) Idioma de Publicación: Inglés

(30) Información de Prioridad:

60/666,071 28 de Marzo de 2005 (28.03.2005) US

(71) Solicitante (Para todos los Estados designados excepto Estados Unidos): **PERICOR THERAPEUTICS, INC.** [US/US];
1255 Fifth Avenue, New York, New York 10029 (US).

(72) Inventor: e

(75) Inventor/solicitante (para Estados Unidos solamente):
MANGANO, Dennis, T. [US/US]; 30 Geneva Road,
Hillsborough, California 94010 (US).

(74) Agentes: **SKUBATCH, Maya** y col; **WILSON SONSINI**
GOODRICH & ROSATI, 650 Page Mill Road, Palo
Alto, California 94304-1050 (US).

(81) Estados Designados (a menos que sea indicado de otra manera para toda clase de protección nacional requerida): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados Designados (a menos que sea indicado de otra manera para toda clase de protección regional requerida): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM) Europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Publicado:

- Con reporte de búsqueda internacional

(88) Fecha de la publicación del Reporte de Búsqueda Internacional
10 de Mayo de 2007

Para los códigos de dos letras y otras abreviaturas, refiérase a "Las Notas Guías sobre Códigos y Abreviaturas" que aparecen al comienzo de cada emisión regular de la Gaceta PCT.

(54) Título: MÉTODOS, COMPOSICIONES Y FORMULACIONES PARA EVITAR O REDUCIR EFECTOS ADVERSOS EN UN PACIENTE

(57) Resumen: La presente invención proporciona métodos, composiciones, formulaciones y equipos relacionados a acadesina o su profármaco, análogo o sal y/o un inhibidor de coagulación de la sangre para evitar o reducir efectos secundarios adversos en un paciente. El tipo de paciente que puede beneficiarse incluye un paciente con función ventricular izquierda disminuida, un paciente con infarto al miocardio previo, un paciente que se someta a cirugía no vascular, o un feto durante trabajo de parto y parto.

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
5 October 2006 (05.10.2006)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2006/105167 A3

(51) International Patent Classification:

A61K 31/70 (2006.01) A61K 31/7056 (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2006/011422

(22) International Filing Date: 28 March 2006 (28.03.2006)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

60/666,071 28 March 2005 (28.03.2005) US

(71) Applicant (for all designated States except US): PERICOR THERAPEUTICS, INC. [US/US]; 1255 Fifth Avenue, New York, New York 10029 (US).

(72) Inventor; and

(75) Inventor/Applicant (for US only): MANGANO, Dennis, T. [US/US]; 30 Genevra Road, Hillsborough, California 94010 (US).

(74) Agents: SKUBATCH, Maya et al.; WILSON SONSINI GOODRICH & ROSATI, 650 Page Mill Road, Palo Alto, California 94304-1050 (US).

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report

(88) Date of publication of the international search report:

10 May 2007

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: METHODS, COMPOSITIONS, AND FORMULATIONS FOR PREVENTING OR REDUCING ADVERSE EFFECTS IN A PATIENT

(57) Abstract: The present invention provides methods, compositions, formulations, and kits related to acadesine, or a prodrug, analog, or salt thereof, and/or a blood clotting inhibitor for preventing or reducing adverse side effects in a patient. The type of patient that may benefit includes a patient with decreased left ventricular function, a patient with a prior myocardial infarction, a patient undergoing non-vascular surgery, or a fetus during labor and delivery.

WO 2006/105167 A3

TRATADO DE COOPERACION DE PATENTES

PCT

De la OFICINA INTERNACIONAL

NOTIFICACION DE REGISTRO
DE UN CAMBIO

(Regla 92 bis. 1 del PCT e
Instrucciones Administrativas, Sección 422)

Fecha de envío por correo (día/mes/año)
21 de Septiembre de 2007 (21.09.2007)

Para:

SKUBATCH, Maya
WILSON SONSINI GOODRICH & ROSATI
650 Page Mill Road
Palo Alto, California 94304-1050
Estados Unidos de América

Archivo de referencia del solicitante o agente
30618-706.601

NOTIFICACION IMPORTANTE

Solicitud Internacional No.
PCT/US2006/011422

Fecha de registro internacional (día/mes/año)
28 de Marzo de 2006 (28.03.2006)

1. Las siguientes indicaciones aparecieron en el registro en relación con:

☒ el solicitante ☐ el inventor ☐ el agente ☐ el representante común

Nombre y Dirección

PERICOR THERAPEUTICS, INC.
1255 Fifth Avenue
New York, New York 10029
Estados Unidos de América

País de Nacionalidad
US

País de Residencia
US

No. Teléfono

No. Facsímile

No. Teleimpresora

2. La Oficina Internacional por el presente notifica al solicitante que el siguiente cambio se ha registrado en relación con:

☐ la persona ☐ el nombre ☒ la dirección ☐ la nacionalidad ☐ la residencia

Nombre y Dirección

PERICOR THERAPEUTICS, INC.
350 Fifth Avenue, 59th Floor
New York, NY 10118
Estados Unidos de América

País de Nacionalidad
US

País de Residencia
US

No. Teléfono

No. Facsímile

No. Teleimpresora

3. Otras observaciones, si fuese necesario:

4. Se ha enviado una copia de esta notificación a:

☒ la Oficina que recibe ☒ las Oficinas designadas relacionadas
☐ la Autoridad de Búsqueda Internacional ☐ las Oficinas seleccionadas relacionadas
☐ la Autoridad de Examen Preliminar Internacional ☐ otros:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsímile No. +4122 338 71 30

Funcionario autorizado

Meach Rosina
e-mail pt09.pct@wipo.int
Teléfono No. +41 22 338 74 09

PATENT COOPERATION TREATY

PCT/US2006/011422

UNIMS/RA6/AN2

RECEIVED

OCT 08 2007

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT WILSON SONSINI
GOODRICH & ROSATINOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

SKUBATCH, Maya
WILSON SONSINI GOODRICH & ROSATI
650 Page Mill Road
Palo Alto, California 94304-1050
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

DOCKETED

Date of mailing (day/month/year) 21 September 2007 (21.09.2007)	
Applicant's or agent's file reference 30618-706.601	IMPORTANT NOTIFICATION
International application No. PCT/US2006/011422	International filing date (day/month/year) 28 March 2006 (28.03.2006)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address

PERICOR THERAPEUTICS, INC.
1255 Fifth Avenue
New York, New York 10029
United States of America

State of Nationality

US

State of Residence

US

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☐ the name ☒ the address ☐ the nationality ☐ the residence

Name and Address

PERICOR THERAPEUTICS, INC.
350 Fifth Avenue, 59th Floor
New York, NY 10118
United States of America

State of Nationality

US

State of Residence

US

Telephone No.

Facsimile No.

Teleprinter No.

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

☒ the receiving Office	☒ the designated Offices concerned
☐ the International Searching Authority	☐ the elected Offices concerned
☐ the International Preliminary Examining Authority	☐ other:

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Meach Rosina

e-mail pt09.pct@wipo.int

Telephone No. +41 22 338 74 09

Facsimile No. +41 22 338 71 30

Form PCT/IB/306 (October 2005)

1/DD8J9V3S0

MÉTODOS, COMPOSICIONES Y FORMULACIONES PARA EVITAR O
REDUCIR EFECTOS ADVERSOS EN UN PACIENTE

RESUMEN, OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

5

La presente invención proporciona métodos, composiciones, formulaciones y equipos relacionados a acadesina o su profármaco, análogo o sal y/o un inhibidor de coagulación de la sangre para evitar o reducir efectos secundarios adversos en un paciente. El tipo de paciente que puede beneficiarse incluye un paciente con función ventricular izquierda disminuida, un paciente con infarto al miocardio previo, un paciente que se someta a cirugía no vascular, o un feto durante trabajo de parto y parto.

15

20

25

**MÉTODOS, COMPOSICIONES Y FORMULACIONES PARA EVITAR O
REDUCIR EFECTOS ADVERSOS EN UN PACIENTE**

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Gruber (patente de los E.U.A. No. 4,912,092)
5 describe administración profiláctica de compuestos AICA
ribósido, incluyendo sus análogos y profármacos, para
evitar daño de tejido asociado con flujo de sangre
disminuido indeseado. Los compuestos AICA ribósido se
administran en cantidades entre 0.1 y 500 mg/kg/día.
10 Profármacos de AICA ribósido, incluyen aquellas
establecidas en la patente de los E.U.A. No. 5,082,829,
con título "AICA Riboside Prodrugs", la solicitud de
Patente de los E.U.A. No. de Serie 07/408,107, presentada
en septiembre 15, 1989, con título "Methods and Compounds
15 for AICA Riboside Delivery and for Lowering Blood
Glucose" y la solicitud de Patente de los E.U.A. No. de
Serie 07/466,979, presentada en enero 18, 1990, con
título "Methods and Compounds for AICA Riboside Delivery
and for Lowering Blood Glucose", todas las cuales aquí se
20 incorporan en su totalidad por esta referencia, también
pueden administrarse. Ciertas profármacos de AICA
ribósido se definen ahí, y en general son compuestos que
cuando se introducen en el cuerpo metabolizarán en AICA
ribósido o un metabolito activo, por ejemplo AICA
25 ribósido monofosfato. Otras profármacos incluyen mono,

di y tri-5' fosfatos de AICA ribósido.

Adenosina, 9-beta-D-ribofuranosiladenina (el nucleósido de la purina adenina), pertenece a la clase de bioquímicos denominados nucleósidos purina y es una
5 molécula regulatoria de células bioquímicas clave, como se describe por Fox y Kelly en Annual Reviews of Biochemistry, Vol. 47, p. 635, 1978. Interactúa con una amplia variedad de tipos de células y es responsable por una miríada de efectos biológicos. Por ejemplo, la
10 adenosina es un potente vasodilatador, un inhibidor de función de células inmune y puede a ciertos niveles mejorar la activación de mastocitos, es un inhibidor de producción de radicales libres de oxígeno granulocito es un antiarrítmico y un neuro-transmisor inhibitorio.
15 Considerando su amplio espectro de actividad biológica, se ha dirigido esfuerzo considerable para establecer usos terapéuticos prácticos para adenosina y sus análogos.

Ya que la adenosina se considera que actúa a nivel de la membrana plasma celular al ligar a receptores
20 anclados en la membrana, el trabajo previo ha incluido intentos por incrementar niveles extracelulares de adenosina por administración de esta en la corriente sanguínea. Desafortunadamente, la adenosina es tóxica a concentraciones que deben administrarse a un paciente
25 para mantener un nivel terapéutico extracelular eficaz, y

la administración de adenosina sola por lo tanto es de uso terapéutico limitado. Además, los receptores de adenosina están sujetos a control de realimentación negativo siguiendo exposición a adenosina, incluyendo
5 reducción de la respuesta ante un estímulo después de la primera exposición a este, o reducir la expresión o disminución de interacciones ligando el receptor.

Otras formas de lograr el efecto de un nivel extracelular local alto de adenosina existen y también se
10 han estudiado. Incluyen: (a) interferencia con la ingesta de adenosina con la absorción con reactivos que bloquean específicamente el transporte de adenosina como se describe por Paterson et al., en the Annals of the New York Academy of Sciences, Vol. 255, p. 402 (1975); (b)
15 prevención de la degradación de adenosina, como se describe por Carson y and Seegmiller en The Journal of Clinical Investigation Vol. 57, p. 274 (1976); y (c) el uso de análogos de adenosina contruidos para ligar con receptores de membrana de plasmas de células-adenosina.

20 Hay un gran repertorio de productos químicos que pueden inhibir la absorción celular de adenosina. Algunos lo hacen específicamente y en esencial son inhibidores competitivos de absorción de adenosina y otros inhiben en forma no específica. P-
25 Nitrobenziltionosina parece ser un inhibidor competitivo,

mientras que dipiridamol y una variedad de otros productos químicos incluyendo colchicina, fenetilalcohol y papaverina, inhiben la absorción en forma no específica.

5 Los niveles extracelulares de adenosina pueden incrementarse por el uso de productos químicos que inhiben la degradación enzimática de adenosina. Trabajo previo se ha enfocado en identificar inhibidores de adenosina deaminasa, que participa en la conversión de
10 adenosina en inosina. La actividad de adenosina deaminasa se inhibe por coformicina, T-deoxicoformicina, e hidroccloruro de eritro 9-(2-hidroxi-3-nonil) adenina.

 Una cantidad de agonistas y antagonistas de receptor de adenosina se han generado que tienen
15 modificaciones estructurales en el anillo purina, alteraciones en los grupos sustituyentes conectados al anillo purina y modificaciones o alteraciones en el sitio de conexión de la porción carbohidrato. Derivados adenosina halogenados parecen haber sido los más
20 promisorios como agonistas o antagonistas y como se describe por Wolff et al., en el Journal of Biological Chemistry, Vol. 252, p. 681, 1977, ejercen efectos biológicos en sistemas experimentales similares a aquellos provocados por adenosina.

25 Aunque todas las tres técnicas discutidas

anteriormente pueden tener ventajas sobre el uso de adenosina sola, tienen varias desventajas, las desventajas principales son que se basan en productos químicos que tienen efectos secundarios terapéuticos adversos, primordialmente debido al hecho de que deben administrarse en dosis que son tóxicas, y que afectan en forma no selectiva a la mayoría de los tipos de células. Como se describe en *Purine Metabolism in Man*, (eds. De Bruyn, Simmonds and Muller), Plenum Press, New York, 1984, la mayoría de las células en el cuerpo transportan receptores para adenosina. Consecuentemente, el uso de técnicas que aumentan niveles de adenosina en general a través del cuerpo puede provocar cambios dramáticos indeseados en la fisiología celular normal.

Con respecto a tejido miocárdico post-isquémico y adenosina se establece en Swain, J. L., J. J. Hines, R. L. Sabina, and E. W. Holmes, *Circulation Research* 51:102-105 (1982), y en Holmes et al., patente de los E.U.A. No. 4,575,498 (otorgada en marzo 11, 1986), que la concentración de adenosina y el flujo de sangre no se alteran en corazones caninos isquémicos expuestos a 5-amino-4-imidazolcarboxamida ribósido (AICA ribósido). También establecen que el agotamiento de depósitos de purina nucleótido, en especial trifosfato de adenosina (ATP), se han postulado que juegan un papel en esta

disfunción siguiendo por ejemplo un evento isquémico y reclaman haber demostrado una síntesis de nucleótido mejorada y reabastecimiento concomitante de depósitos de ATP al tratar miocardio post-isquémico con AICA ribósido
 5 análogo purina, estableciendo que el reabastecimiento de depósitos ATP en teoría deberá permitir el mejoramiento del daño de tejido.

Diversos otros grupos de investigadores, sin embargo han publicado estudios en donde fueron incapaces
 10 de demostrar un reabastecimiento mejorado de depósitos ATP en tejido isquémico por el método de Swain et al., supra. Mentzer, R. M., Ely, S. W., Lasley, R. D., Lee, B. K. and Berne, R. M., Fed. Proc. 43:903 (1984); Mitsos, S. E., S. R. Jolly and B. R. Lucchesi, Pharmacology 31:121-
 15 131 (1985); Hoffmeister, H. M., Nienaber, C, Mauser, M. and Schaper, W. E., Basic Research in Cardiology 80:445-458 (1985); Mauser, M., H. M. Hoffmeister, C. Nienaber, and W. E. Schaper, Circul. Res. 56:220-230 (1985). De hecho, Hoffmeister et al., demuestra que el
 20 reabastecimiento de ATP por otro mecanismo no mejora la disfunción cardíaca. Incluso Holmes y Swain han documentado que AICA ribósido no alcanza efectivamente ATP debido a una inhibición de la conversión de monofosfato de inosina (IMP) en monofosfato de adenosina
 25 (AMP). Sabina, R. L., Kernstine, K. H., Boyd, R. L.,

Holmes, E. W. and Swain, J. L., J. Biol. Chem. 257:10178 (1982); Amidon, T. M., Brazzamano, S., Swain, J. L., Circ. Suppl. 72:357 (1985); Swain, J. L., Hines, J. J. Sabina, R. L., Harburg, O. L. and Holmes, E. W., J. Clin. Invest. 74:1422-1427 (1984). Amidon et al., supra, establece que "estos resultados indican que las actividades de adenilosuccinato sintetasa y/o liasa son limitantes en corazones aislados y sugieren que las intervenciones diseñadas para derivar IMP en una síntesis de Adenina Nucleótido (AN) pueden ser más ventajosas para incrementar el tamaño del depósito AN". Swain et al., supra., (J. Biol. Chem.), también demuestran que AICA ribósido no altera consistentemente los niveles de ATP en miocardio no isquémico.

15 Mientras que Mitsos et al., arriba reclamó que su estudio demuestra que AICA ribósido infundido en forma intracoronaria en altas dosis protege corazones isquémicos globalmente de la disfunción mecánica asociada con un insulto isquémico, Hoffmeister et al., Basic Res. Cardiol. 80:445-458 (1985), mostró que al producir una isquemia reversible en perros por oclusión de arteria coronaria, aplicación de AICA ribósido no mejora la función post-isquémica y de hecho empeora en Swain et al., supra., (J. Clin. Invest.) confirma los efectos

20 nocivos de altas dosis de AICA ribósido en

25

contractibilidad muscular. De esta manera, la propuesta que la administración de AICA ribósido sería de beneficio para pacientes después de un evento isquémico para reabastecimiento de depósitos ATP no parece ser válida.

5 Se apreciará de la discusión anterior que una técnica que incremente los niveles extracelulares de adenosina o análogos de adenosina en tiempos específicos durante un evento patológico, que incremente estos compuestos sin efectos secundarios complejos, y que
10 permita niveles incrementados de adenosina sean el objetivo o blanco selectivo a células que se beneficie más de esto sería de uso terapéutico considerable. A manera de ejemplo, dicha técnica será especialmente útil en la prevención de, o respuesta durante un evento
15 isquémico tal como un ataque cardíaco o derrame cerebral, u otro evento que involucre un flujo de sangre indeseado, restringido o disminuido, tal como aterosclerosis ya que adenosina es un vasodilatador y evita la producción de radicales superóxido por los granulocitos. Dicha técnica
20 también será útil en el tratamiento profiláctico o afirmativo de estados patológicos que involucran excitación celular incrementada, tal como (1) ataques o epilepsia, (2) arritmias y (3) inflamación debido por ejemplo artritis, enfermedad autoinmune, Síndrome de
25 Esfuerzo Respiratorio de Adulto (ARDS = Adult Respiratory

Distress Syndrome) y activación de granulocitos por complemento del contacto con la sangre con membranas artificiales como ocurre durante diálisis o con máquinas de corazón-pulmón. También sería útil en el tratamiento de pacientes que puedan tener baja adenosina crónica tal como aquellos que sufren de autismo, parálisis cerebral, insomnio y otros síntomas neuropsiquiátricos, incluyendo esquizofrenia. Los compuestos útiles en la invención, que incluyen AICA ribósido, pueden utilizarse para lograr estos objetivos.

Otra área de importancia médica es el tratamiento de enfermedades alérgicas, que puede lograrse ya sea al evitar que mastocitos activen o por interferencia con mediadores de respuestas alérgicas secretadas por mastocitos. La activación de mastocitos puede ser reducida en expresión por inmunoterapia (inyecciones de alergia) o por estabilizadores de mastocitos tales como cromalina sodio, corticosteroides y aminofilina. También hay agentes terapéuticos que interfieren con los productos de mastocitos tales como anti-histaminas y agentes adrenérgicos. El mecanismo de acción de estabilización de mastocitos no se comprende claramente. En el caso de aminofilina, es posible que actúe como un antagonista receptor de adenosina. Sin embargo, agentes tales como cromalina sodio y los

corticoesteroides no se comprenden bien. Se apreciará por lo tanto que tratamiento de alergia efectivo con compuestos que no muestran ninguno de los efectos secundarios de los compuestos anteriormente anotados, tales como somnolencia en el caso de anti-histaminas, 5 agitación en el caso de agentes adrenérgicos y síntomas de la enfermedad de Cushing en el caso de los corticosteroides, serán de gran significancia y utilidad. En contraste con los compuestos útiles en la invención, 10 tales como AICA ribósido y ribavirina, ninguno de los tres estabilizadores de mastocitos conocidos se conoce o se considera que se metabolizan en la célula a purina nucleósido trifosfatos o purina nucleósido monofosfatos.

Gruber (patente de los E.U.A. No. 5,817,640) 15 describe concentraciones terapéuticas particulares de AICA ribósido para la prevención de daño de tejido asociado con flujo de sangre disminuido en humanos, y la determinación de dosis que logran eficacia mientras que evitan efectos secundarios indeseables. En un aspecto, 20 el AICA ribósido o su profármaco se administra a una persona en una cantidad, que mantiene una concentración en plasma de sangre de AICA ribósido por un tiempo suficiente de manera tal que el riesgo de daño de tejido se reduce en esa persona, o de aproximadamente 1 $\mu\text{g/ml}$ a 25 aproximadamente $\mu\text{g/ml}$. En otro aspecto, el AICA

ribósido se administra a una persona a una dosis desde aproximadamente 0.01 mg/kg/min a aproximadamente 2.0 mg/kg/min para reducir el riesgo de daño de tejido. Otro aspecto caracteriza la prevención de daño de tejido al
5 administrar una dosis total de AICA ribósido desde 10 mg/kg a 200 mg/kg.

AICA ribósido entra a las células y se fosforila en AICA ribósido monofosfato ("ZMP"), un intermediario de origen natural en biosíntesis de purina.
10 AICA ribósido aumenta los niveles de adenosina extracelulares bajo condiciones de descomposición ATP neta y por lo tanto a la luz de las propiedades cardioprotectoras y neuroprotectoras de adenosina puede tener usos terapéuticos potenciales. Sin embargo, AICA
15 ribósido tiene relativamente baja potencia y corta vida media. También, hemos encontrado que AICA ribósido no cruza la barrera sangre-cerebro bien y es absorbido en forma ineficaz del tracto gastrointestinal. Estas características de potencia limitada, bio-disponibilidad
20 oral limitada y penetración de cerebro limitada disminuyen su potencia para uso como un agente terapéutico.

Tratamiento AICA ribósido se ha reportado que tiene efectos benéficos en una cantidad de modelos
25 experimentales de isquemia de miocardio. En un modelo de

perro, en donde acompasamiento induce un declive progresivo profundo en el espesor de pared y flujo de sangre de endocardio y un aumento en desviación de segmento ST de EKG intramiocardio, AICA ribósido atenúa en forma marcada a estos cambios para mantener la función contráctil >Young and Mullane, Am. J. Physio., in press (1991). En otro modelo de perro, en donde la isquemia se induce por oclusión de arteria coronaria, AICA ribósido se reporta que es benéfico por disminución significativa de arritmias inducidas por isquemia y mejorar el flujo de sangre a la región isquémica del miocardio (Gruber et al, Circulation 80 (5): 1400-1410 (1990)). Un efecto de AICA ribósido para incrementar flujo de sangre regional y mantener la función contráctil también se reporta en un modelo de perro de embolización coronaria en donde se induce isquemia por administración de microesferas directamente en la circulación coronaria (Takashima et al, Heart and Vessels 5 (Supplement 4): 41 (1990)). Una consecuencia potencial de esta redistribución reportada en flujo de sangre por AICA ribósido se dice que es una reducción de tamaño de infarto (McAllister et al, Clinical Research 35: 303A (1987)). Tratamiento con AICA ribósido se ha reportado que tiene consecuencias favorables en otros modelos experimentales de isquemia de miocardio. Por ejemplo, Mitsos et al., (Pharmacology 31:

121-131 (1985)) reportó que AICA ribósido mejora la recuperación de función post-isquémica en el corazón de gato de perfusión-sangre aislada y Bullough et al., (Jap. J. Pharmacol 52: 85p (1990)) reportó recuperación
5 mejorada en un corazón de conejillos de indias con perfusión de amortiguador aislado. De esta manera, AICA ribósido se ha reportado que alivia lesión inducida por isquemia al corazón en diversos modelos experimentales.

AICA ribósido también se ha reportado que
10 protege el tejido del cerebro contra daño en dos modelos experimentales diferentes de isquemia cerebral. En un modelo de gerbo de isquemia global, AICA ribósido se reporta que evita la degeneración de células CA-I de hipocampo, que en animales de control fueron destruidas
15 virtualmente completa (Phillis and Clough-Helfman, Heart and Vessels 5 (Supplement 4): 36 (1990)). En un modelo de rata de isquemia focal, se reportó tratamiento de AICA ribósido que proporciona una reducción significativa en tamaño de infarto. Los efectos protectores de AICA
20 ribósido también se han reportado en otros modelos de isquemia, incluyendo supervivencia de aleta de piel de rata A626 (1988); Salerno et al., in Proceedings of 35th Annual Meeting of the Plastic Surgery Research Council, pp. 1 17-120 (1990)) y lesión de reperfusión-isquemia
25 gastrointestinal (Kaminski & Proctor, Circulation Res.

66 (6): 1713-1729 (1990)).

Una cantidad de estudios sugieren que los efectos benéficos de AICA ribósido pueden ser adjudicados, al menos en parte a un aumento en eventos
5 locales de adenosina, que tiene similares propiedades cardioprotectoras (Olafsson et al, Circulation 76: 1135-1145 (1987)) y neuroprotectoras (Dragunow & Faull, Trends in Pharmacol. Sci. 7:194 (1988); Marangos, Medical Hypothesis 32: 45 (1990)). Evidencia de be mejora de
10 niveles de adenosina inducida por AICA ribósido es tanto directa, es decir una consecuencia de la medición de la propia adenosina tanto en modelos de cultivo de animales y células (Gruber et al, Circulation 80(5): 1400-1410 (1990); Barankiewicz et al, Arch. Biochem. Biophys., 283:
15 377-385, (1990)) e indirectos es decir implicado por inversión de las propiedades anti-isquemicas de AICA ribósido por remoción de adenosina exógena utilizando adenosina de aminaza (Young & Mullane, AmJ. Physio., in press (1991)). En corazones sometidos a ischemia y
20 reperfusión, el daño celular ha sido en parte atribuido a taponamiento del los micro vasos por neutrófilos. Se ha reportado que el adenosina y mi adhesión del neutrófilos a células endoteliales coronarias y por lo tanto acumulación de neutrófilo (Cronstein et al., J. Clin.
25 Invest. 78:760-770 (1986)). Consecuentemente, otra

característica de los efectos protectores mediados por adenosina de AICA ribósido en el corazón puede ser a través de prevención de lesión a tejido dependiente de neutrófilo en algunos modelos de isquemia y reperfusión.

5 Esto es soportado por evidencia por disminuir acumulación del neutrófilos en la región isquémica del corazón por AICA ribósido (Graber et al, Circulation 80:1400-1410 (1990)).

Un reconocimiento de las propiedades

10 cardioprotectoras y neuroprotectoras de adenosina ha llevado a intentos por explorar el uso terapéutico de la propia adenosina administrada exógenamente. Sin embargo, la corta vida media de adenosina en sangre (<10 segundos) requiere el uso de alta dosis e infusiones continuas para

15 mantener niveles apropiados para la mayoría de los tratamientos. La propia adenosina provoca y hipotensión, es decir reduce presión de la sangre; también es un agente dromotrópico y cronotrópico negativo, es decir reduce el ritmo cardíaco y la conducción eléctrica en el

20 corazón respectivamente. La adenosina por lo tanto ejercerá efectos hemodinámicos sistémicos marcados a concentraciones que se requerirán para producir propiedades cardioprotectoras o neuroprotectoras. Estas acciones cardiovasculares sistémicas frecuentemente son

25 contraindicadas en la mayoría de las condiciones clínicas

en donde la adenosina puede ser útil. En contraste, como resultado de sus efectos locales en niveles de adenosina, la administración de AICA ribósido no produce estos efectos secundarios, incluso a dosis considerablemente superiores que los niveles terapéuticos esperados (Graber et al; Circulation 80: 1400-1410, (1990); Young & Mullane, AmJ. Physio., in press, (1991)).

Agonistas receptores de adenosina también se han estudiado y efectos similares adenosina se ha reportado en una cantidad modelos experimentales. (Daly, J. Med. Chem. 25(3):197 (1982). De nuevo, debido a que la mayoría de los tipos de células tienen receptores de adenosina, agonistas de adenosina administrados exógenamente exhiben acciones profundas en una variedad de tejidos y órganos, fuera del órgano objetivo, de esta manera limitando su potencial terapéutico.

Otras formas de lograr de lograr potencialmente el efecto de un nivel extra celular local alto de adenosina se han estudiado. Incluye: a) interferencia con la absorción de adenosina que dicho absorción puede ser captación de adenosina con reactivos que bloquean específicamente el transporte de adenosina, como se describe por Paterson et al., en "the Annals of the New York Academy of Sciences", Vol. 255, p. 402 (1975); b) prevención de degradación de adenosina, como se describe

por Carson y Seegmiller en The Journal of Clinical Investigation, Vol. 57, p. 274 (1976); y c) el uso de análogos de adenosina contruidos para ligar a receptores de membrana de plasma en célula-adenosina.

5 Hay un repertorio de productos químicos que supuestamente pueden inhibir la captación celular de adenosina. Algunos se ha reportado que lo hacen específicamente, que se considera que son esencialmente competitivos inhibidores de captación de adenosina y
10 otros se considera que inhiben en forma no específicamente, p-nitrobenziltioinosina parece ser un inhibidor competitivo mientras que y dipiridamol y una variedad de otros productos químicos incluyendo colchicina, fenetialcohol y papaverina padecen inhibir la
15 captación en forma no específica.

La patente de los E.U.A número 4,115,641 otorgada a Fischer et al, se dirige a ciertos derivados de ribofuranosilo que se dice tienen propiedades dinámicas cardíacas y circulatorias. En particular,
20 Fischer et al, se dirigen a ciertos compuestos que se dice tienen modos de acción tipo adenosina intrínsecos como se determinará al medir o disminuir o ritmo cardíaco y presión sanguínea.

En contraste, AICA ribósido y compuestos tipo
25 AICA ribósido llevan a niveles mejorado de adenosina al

tiempo y ubicación específicos de un evento patológico y de esta manera permiten incrementados niveles de adenosina sean selectivamente dirigidos sin efectos secundarios nocivos.

5 La presente invención se dirige a análogos AICA ribósido que exhiben y en muchos casos mejoran en los efectos biológicos positivos de AICA ribósido. Los compuestos novedosos típicamente exhiben una materia
10 siguientes mejoras frente a AICA ribósido: 1) beneficios funcionales a menores dosis; 2) accionar reguladoras de adenosina más potentes; 3) incrementadas vidas medias o; 4) incrementada biodisponibilidad oral y/o penetración en el cerebro.

 Complicaciones post quirúrgicas son una fuente
15 significativa de morbilidad y mortalidad y gasto del cuidado la salud.

 Para cirugía cardíaca, aproximadamente un millón de pacientes se someten cada año y aproximadamente uno en cada seis desarrolla una complicación de órgano
20 substancial sería referente al corazón, cerebro, riñón, tracto GI y pulmón (Mangano, et al, 1997, J. Intensive Care Med. 12:148-160). Sin embargo a pesar de numerosos avances en la técnica y supervisión, ninguna profármaco ha mostrado que reduzca o evite estas complicaciones. La
25 preocupación ha sido con el sangrado y ahora se utilizan

profármacos para evitarlo. Sin embargo, las profármacos que inhiben el sangrado en general provocan trombosis, y por lo tanto pueden inducir isquemia y lesión de órgano irreversible (Cosgrove, et al, 1992, *Ann. Torca. Surg.* 54:1031-36).

Para cirugía no cardíaca, aproximadamente 250 millones de pacientes se someten cada año y aproximadamente cuatro por ciento desarrolla una complicación de órgano principal sería referente al corazón (Mangano, et al, 1990, *Anesthesiology* 2:153-84; Mangano, et al, 1990 *NEJM* 323:1781-88). Sólo una profármaco se ha mostrado que mitiga lección-atenolol (Mangano, et al, 1996, *Ms./M335:1713-20*). Igualmente, predomina consideraciones por sangrado, y las profármacos que evitan la trombosis (anti plaquetas, anti coagulación) son virtualmente contraindicadas (Eagle, et al, 1999, *JACC* 34/1262-1347; Pearson, et al, 1994, *Circulation* 90:3125-33; Baumgartner, et al, 1994, *Johns Hopkins Manual of Surgical Care*, Mosby Yearbook, St. Louis).

Sin embargo, tanto para cirugía cardíaca como no cardíaca, respuestas marcadas exito-tóxicas e inflamatorias ocurren por días después de las cirugía sin no meses después de las cirugía (Silicano and Mangano, 1990, *Mechanisms and Therapies*. In: Estafanous, ed.

Opioids in Anesthesia Butterworth Publishers, pp.164-178). Estas respuestas marcadamente extranjeras se asocian con activación de factor de coagulación y plaquetas, que puede precipitar la trombosis.

5 Aunque se reconoce como no posibilidad, estos agentes son relativamente-y en algunos casos (fibrinolíticos), contraindicados en forma absoluta debida temor por hemorragia excesiva en el sitio quirúrgico, así como en otros sitios (Eagle, et al, 1999, 10 JACC 34:1262-1347; Pearson, et al, 1994, Circulation 90:3125-3133; Baumgartner, et al, 1994, Johns Hopkins Manual of Surgical Care, Mosby Yearbook, St. Louis). Además, algunos consideran-especialmente después de cirugía cardíaca-que la función de coagulación y 15 plaquetas son deprimidas después de cirugía, de manera tal que la trombosis no es una consideración (Kestin, et al, 1993, Blood 82:107-117; Khuri, et al, 1992, J. Thorac.Cardiovasc.Surg. 104:94-107). De esta manera, no se ha hecho esfuerzo para investigar el uso de agentes 20 ante durante inmediatamente después de cirugía.

Finalmente, los solicitantes han mostrado que eventos pre operativos en manifiestan de seis a ocho meses o más, (Mangano, et al 1992, JAMA 268:233-39); de esta manera la continuación del uso de estos agentes 25 anticua una empresa a través del curso en hospital y

después posterior a el alta es racional.

Los pacientes de cirugía-ahora que representan 40 millones por año en los E.U.A. solamente-están envejeciendo casi el doble de rápido que la población total. {Ver, Mangano, et al, 1997, J. Intensive Care Med. 12/148-160).

Las normas de atención actuales son insatisfactorias para resolver este problema criticó, y enfoque novedoso se requiere desesperadamente para evitar complicaciones posteriores a las cirugía en nuestra población que envejece.

La supervisión electrónica del ritmo cardíaco fetal es una parte importante del proceso de parto y nacimiento para las mujeres. En algunos casos, una desaceleración en el ritmo cardíaco fetal, incluyendo desaceleraciones tardías persistente con pérdida de variabilidad del latido-a-latido desaceleraciones variable no tranquilizantes asociadas con pérdida de variabilidad del latido-a-latido, bradicardia severa prolongada, patrón sinusoidal, pérdida confirmada de variabilidad latido-a-latido no asociada con inactividad fetal, medicamentos o prematuridad severa puede requerir resucitación fetal intrauterina de emergencia y parte inmediato. (Sweha, et al., 1999. American Family Physician 59(9):2487-2507; Kripke 1999, American Family

Physician 59(9):2416). Hay necesidad por métodos para evitar y recibir efectos adversos por estos eventos para la salud del feto.

COMPENDIO DE LA INVENCION

5 La presente inversión se refiere a métodos para prevenir o reducir efectos adversos en un paciente, incluyendo al administrar acadesina o una profármaco o una pro profármaco análogo de la misma; o acadesina o una pro profármaco análogo de la misma y un inhibidor de
10 coagulación de la sangre. Además, la intención incluye formulaciones farmacéuticas, composiciones, soluciones cardioplégicas, y equipos relacionados a evitar o reducir efectos adversos en un paciente. La intención puede beneficiar varios tipos de pacientes, incluyendo a un
15 paciente confusión ventricular izquierda disminuida, un paciente con infarto al miocardio previo paciente que somete a cirugía no vascular o uso de todos durante el parto y nacimiento.

INCORPORACIÓN POR REFERENTES

20 Todas las publicaciones solicitudes de patente de Jonathan esta especificación ha que se incorpora por referencia era menor medida que citada publicación o solicitud de patente individual de implicara en forma específica individualmente incorporada por referencia.

25 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1. Rutas metabólicas de adenosina.

La Figura 2. Efecto in vitro de pre incubación a 48 horas con AICA ribósido en expresión de adenosina por linfoblastos humanos durante descomposición de ATP.

5 La Figura 3. El efecto con el tratamiento AICA ribósido en concentraciones de adenosina venosa coronaria. La sangre venosa coronaria se recolecta en ácido perclórico 2N enfriado en diversos tiempos antes y después de oclusión de arteria coronaria. Sobrenadantes
10 de estos extractos de neutralizar con alanina y freón y evaluaron por cromatografía líquida con alto desempeño. Las concentraciones promedio de adenosina +/- be desviaciones estándar para los cinco tratados con salino () y seis perros tratados con AICA ribósido
15 (.cuadratura.) son gráficas.

La Figura 4. Efecto in vivo de AICA ribósido en flujo de sangre al miocardio regional durante oclusión de arteria coronaria en perros. Flujo de sangre al miocardio regional se midió utilizando micro esferas radio
20 etiquetadas con infusiones en el atrio izquierdo más 5 minutos (abierto) y 60 minutos (sombreado) de oclusión. Los promedios más las desviaciones estándar se grafican. Los asteriscos (*) identificaron diferencias de perros tratados con salino que son significantes a $p < 0.01$.

25 La Figura 5. Comparación de los efectos de

tratamiento AICA ribósido () y tratamiento del control que contiene sólo salino (.Cuadratura.) en niveles de inosina en perros.

La Figura 6. Efectos de AICA ribósido y ribavirina ribósido para inhibir la enzima AMP de amenaza

La Figura 7. Efectos de preincubaciones 18 horas con AICA a ribósido en excreción de adenosina por linfoblastos humanos durante descomposición de ATP.

La Figura 8. Efecto de pre incubación a tres horas e incubación de cuatro horas con AICA ribósido en expresión de adenosina in vitro por linfoblastos humanos durante descomposición ATP.

La Figura 9. Incrementada liberación de adenosina in vitro de linfoblastos humanos en tratamiento con ribavirina

La Figura 10. Liberación de .beta.-hexosaminidasa de más tocitos del control y tratados con ribavirina. Mastocitos derivados de médula ósea de ratones cultivados por tres a siete días en medio sólo (abierto) o ribavirina 10 μ m (sombreado) se probaron con ionóforo de calcio A23187. Los porcentajes de liberación β -Hexosaminidasa células en reposo y estimuladas se ilustran como promedios +/- SE de valores duplicados de siete experimentos. Los asteriscos (*) identificaron datos significativamente diferentes de células del

control ($p < 0.05$). Resultados similares se obtienen con estimulación de DNP-BSA antígeno de más tocitos sensibilizados con IgE anti-DNP.

La Figura 11. Efectos de dosis-respuesta de
5 ribavirina en liberación de β -hexosaminidasa de mastocito. Mastocitos se cultivaron en medio solo (controles) o 1, 10, o 20 μ M de ribavirina por seis días, lavaron, probaron con A23187 y se cuantificó el desprendimiento neto de β -hexosaminidasa. Células
10 tratadas con ribavirina en todas las concentraciones probadas liberaron significativamente menos hexosaminidasa cuando se prueban con A23187. Contenido mediador y liberación espontánea no fueron diferente en células de control y expuestas a ribavirina. Se ilustran
15 promedios $\pm$ SE de determinación duplicada de tres experimentos.

La Figura 12. Inhibición de AICA ribósido de ataques inducidos por pentilen tetrazol en la rata.

La Figura 13. Inhibición de AICA ribósido de
20 arritmias inducidas por isuprel en la rata.

La Figura 14 es una representación gráfica de valores de paciente individual de niveles de banda MB creatinina fosfoquinasa (CK-MB) en pacientes de placebo (n=37) para pacientes en el estudio descrito en el
25 Ejemplo 1.

La Figura 15 es una representación gráfica de valores de pacientes individuales de niveles de banda MB de creatinina fosfoquinasa (CK-MB) en altas dosis (0.01 mg/kg/min). AICA ribósido (n=35) para pacientes en el estudio descrito en el Ejemplo 1.

La Figura 16 es una representación gráfica de valores de pacientes individuales de niveles de banda MB de creatinina fosfoquinasa (CK-MB) en bajas dosis (0.05 mg/kg/min) AICA ribósido (n=41) para pacientes en el estudio descrito en el Ejemplo 1.

La Figura 17 es una representación gráfica de valores de banda MB creatinina fosfoquinasa promedio para cada grupo de tratamiento con el tiempo, para los pacientes en el estudio descrito en el Ejemplo 1.

La Figura 18 es una representación gráfica que muestra la concentración promedio en plasma de AICA ribósido ($\mu\text{g/ml}$) durante y siguiendo la infusión constante de 0.05 o 0.1 mg/kg/min de la profármaco a los pacientes durante cirugía con CABG, para los pacientes en el estudio descrito en el Ejemplo 1. La línea sólida muestra 0.05 mg/kg/min y la línea punteada muestra 0.1 mg/kg/min.

La Figura 19 ilustra una comparación de los efectos dependientes de dosis de AICA ribósido (Compuesto No. 1 de las Tablas XII y XIII (1-110)) y un análogo AICA

ribósido N-4 (Serie I) sustituido (Compuesto No. 10 (1-186)) en niveles de adenosina de tejido en un modelo de isquemia en corazón de rata.

Las Figuras 20A-C ilustran una comparación del efecto de AICA ribósido (Compuesto No. 1; y una serie de análogos AICA ribósido sustituidos con (Serie IV) (Compuestos Nos. 20 (1-188), 34(1-250) y 32 (1-262)) en utilización de adenosina (junto con inosina e hipoxantina) en un modelo de cultivo celular.

La Figura 21 ilustra los efectos de análogos de AICA ribósido sustituido con N-4 (Serie I) (Compuestos Nos. 10(1-186 y 11 (1-226) en un modelo de isquemia de cerebro de gerbo.

La Figura 22 ilustra inhibición de transporte de adenosina en linfoblastos WI-L2 después de 1 minuto de pre-incubación con el Compuesto No. 53 (1-468) a las concentraciones anotadas.

La Figura 23 ilustra inhibición de transporte de adenosina en linfoblastos WI-L2 después de 1 hora de pre-incubación con el Compuesto No. 53 (1-468) a las concentraciones anotadas.

La Figura 24 Aspirina, Muerte y Cirugía. Esto proporciona resultados isquémicos fatales (N=164) y no fatales (N=748) entre los grupos de aspirina y sin aspirina. La población en riesgo varía entre los

resultados individuales ya que resultados respectivos que ocurren dentro de 48 horas se excluyeron. La proporción de probabilidades y su intervalo de 95% de confianza.

La Figura 25 Aspirina, Muerte y Cirugía. Esto proporciona supervivencia en hospital por uso de aspirina entre 5022 pacientes de estudio que sobreviven las primeras 48 horas posteriores a Cirugía CABG. Proporciona supervivencia de treinta días por uso de aspirina entre los 5065 pacientes del estudio. Análisis Kaplan-Meier de supervivencia de acuerdo con el uso de aspirina.

La Figura 26 Aspirina, Muerte y Cirugía. Proporciona mortalidad asociada con transfusión de plaquetas entre los grupos de aspirina y sin aspirina. Todas las comparaciones son significantes. Para el grupo de aspirina, transfusión de plaquetas contra sin transfusión de plaquetas ($P=0.001$), para el grupo sin aspirina, transfusión de plaquetas contra sin transfusión de plaquetas ($P<0.001$) para el grupo de transfusión de plaquetas, aspirina contra sin aspirina ($P=0.001$), con el grupo de transfusión de plaquetas, aspirina contra sin aspirina ($P=0.001$).

La Figura 27 Aspirina, Muerte y Cirugía. Proporciona mortalidad asociada con el uso de terapia anti-fibrinolítica entre los grupos de aspirina y sin

20

aspirina. Esto incluye 3659 pacientes que reciben ya sea aprotinina (1578 pacientes), ácido ϵ aminocapróico (1258 pacientes), ácido tranexamínico (951 pacientes) o desmopresina (61 pacientes). Todas las comparaciones son significantes. Para el grupo de aspirina, terapia anti-fibrinolítica contra terapia no anti-fibrinolítica ($P=0.04$); para el grupo de aspirina, terapia anti-fibrinolítica contra terapia no anti-fibrinolítica ($P=0.31$), para el grupo de terapia anti-fibrinolítica, aspirina contra sin aspirina ($P<0.001$), para el grupo de terapia anti-fibrinolítica, aspirina contra sin aspirina ($P=0.001$).

DESCRIPCIÓN DETALLADA LA INVENCION

"Fracción de expulsión" se refiere a una medida de la función de ventrículo izquierdo, también denominada fracción de expulsión ventricular izquierda (LVEF = left ventricular ejection fraction). La fracción de expulsión es el porcentaje de sangre expulsada del ventrículo izquierdo con cada latido cardíaco. Una LVEF de 50% indica que el ventrículo izquierdo expulsa la mitad de su volumen cada vez que se contrae. Una fracción de expulsión normal es 50% o superior. Una fracción de expulsión reducida indica que hay presente cardiomiopatía. En un aspecto, la invención proporciona un método para evitar o reducir efectos adversos en

paciente con disminuida función ventricular izquierda que tiene una fracción de expulsión menor a 30% al administrar una cantidad efectiva de acadesina o una profármaco, análogo o sal de la misma. Otra modalidad
5 proporciona un método en donde el paciente es femenino y/o entre las edades de 65 a 95.

Otro aspecto de la invención, proporciona un método para disminuir daño de tejido asociado con disminuido flujo de sangre en un paciente al administrar
10 una cantidad efectiva de acadesina, o una profármaco análogo o sal de la misma, en donde el paciente es un feto durante parto y nacimiento.

En una modalidad, una cantidad efectiva de acadesina, o una profármaco, análogo o una sal del mismo
15 se administran a una mujer que da a luz al feto.

En un aspecto, la invención proporciona una modalidad farmacéutica, la invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende acadesina o una profármaco, análogo o su sal para utilizar en
20 administración a un feto durante parto y nacimiento para evitar o reducir daño de tejido asociado con disminuido flujo de sangre en el feto.

Métodos novedosos se describen para mejorar liberación de adenosina, especialmente durante
25 catabolismo ATP neto, es decir durante un tiempo de

disminución o una proporción disminuida de síntesis de ATP por la descomposición de ATP en células o compartimientos celulares.

Métodos novedosos también se describen para
5 estabilizar mastocitos.

También se incluyen dentro del alcance de la invención un método para cribar o monitorear compuestos de purina nucleósido o sus análogos por la capacidad de mejorar la síntesis celular y liberación de adenosina que
10 comprende administrar a células cultivadas una primer composición que comprende un compuesto purina nucleósido o un análogo a cribar, administrado a las células de cultivo una segunda composición que comprende un compuesto que promueve catabolismo neto de trifosfato de
15 adenosina y determinar el nivel o cantidad de adenosina liberada por las células cultivadas.

Este último método además puede comprender un primer juego de control de células cultivadas a las cuales ni la primera composición ni la segunda
20 composición se agrega, un segundo juego de control de células cultivadas al cual se agrega la primera composición y un tercer juego de control de células cultivadas al cual se agrega la segunda composición. Las células cultivadas pueden derivarse de una línea celular
25 maligna humana, tal como linfocitos B transformados de

virus Epstein-Barr o la línea celular de linfoblasto esplénico humano WI-L2, tal como el empleado en el Ejemplo II. Compuestos utilizados para crear composiciones para la promoción de catabolismo neto de trifosfato de adenosina que incluyen ionóforos de calcio y 2-deoxiglucosa.

Métodos para mejorar la liberación de adenosina utilizan la administración de compuestos que se considera alteran una o más de las rutas bioquímicas de metabolismo de adenosina de manera tal que el resultado neto es una concentración extracelular mejorada de adenosina (que resulta de uno o más procesos, incluyendo producción intracelular mejorada y/o liberación de adenosina). Ejemplos de compuestos útiles en la invención incluyen compuestos ampliamente clasificados como nucleósidos de purina y análogos relacionados, tales como AICA ribósido, AICA ribótido, 1- β -D-ribofuranosil-1H-1,2,4-triazol-3-carboxamida (ribavirina) ribavirina monofosfato y diversas pro-formas de los compuestos anteriores. Los compuestos son adsorbidos por las células y de ser necesario se considera que se convierten a su monofosfato y en una menor proporción sus formas trifosfato. También se incluyen (1) agentes que pueden mejorar la síntesis endógena de AICA ribótido o metabolitos, tales como metabolitos intermediarios de purina o compuestos que

pueden formar estos metabolitos, por ejemplo succinilaminoimidazol carboxamida (SAICA) ribósido, (2) agentes que provocan una acumulación de AICA-ribótido o sus metabolitos, incluyendo metotrexato y (3) agentes que
5 pueden provocar que la flora bacteriana incremente la producción de AICA ribósido, tales como sulfonamidas. Estos compuestos pueden administrarse a un paciente ya sea en forma profiláctica en algunos casos y/o en respuesta directa a una condición corporal en otros.

10 Nucleósidos de purina que mejoran la expresión de adenosina celular y/o análogos adenosina pueden administrarse a un sistema vivo sobre el rango de concentración de 0.5 micromolar a 0.5 molar y típicamente se administran en concentraciones de hasta 0.5 molar.

15 Adenosina o inosina se generan de trifosfato de adenosina en el curso de utilización de energía celular rápida, tal como durante una actividad de ataque, arritmias o una condición que resulta en flujo de sangre disminuido (isquemia), tal como derrame cerebral, ataque
20 al corazón o angina. Normalmente, durante este evento, la producción de inosina es mayor que la de adenosina. En el área de bajo flujo durante oclusión coronaria, por ejemplo la proporción de inosina venosa a adenosina es aproximadamente 100 a 1. Un cierto porcentaje de inosina
25 y adenosina sale de la célula y está presente en el

ambiente extracelular inmediato. Los compuestos útiles en los métodos descritos y reivindicados aquí se han mostrado que mejoran la concentración extracelular de adenosina y la producción de inosina se ha mostrado que disminuye. Niveles de adenosina no se alteran significativamente a través en el paciente debido a que las alteraciones en producción de adenosina solo ocurren en áreas de, y al tiempo de, uso de ATP neto y debido a que adenosina se degrada rápidamente. De esta manera, los métodos descritos y reivindicados aquí provocarán que una concentración incrementada localizada de adenosina extracelular en lugar de una mejora de adenosina sistémica o generalizada.

Oxidación de lipoproteína de baja densidad (LDL = low density lipoprotein) es una de las primeras, si no la primera, etapas en el proceso de aterosclerosis, un proceso que se considera involucra inflamación y que se debe a activación de granulocitos y/o células mononucleares. Los lípidos oxidados son adsorbidos por macrófagos para formar la placa aterosclerótica. Debido a que la adenosina evita la producción de radicales superóxido por granulocitos, los compuestos de la invención que mejoran la liberación de adenosina deberán frenar, evitar o invertir el desarrollo de aterosclerosis.

Pacientes que sufren de (1) enfermedad autoinmune, (2) artritis, (3) psoriasis, (4) rechazo de transplante de órgano, (5) activación de granulocitos mediada por complemento después de exposición a membrana de diálisis o corazón-pulmón, (6) ARDS u otras condiciones inflamatorias. Si se debe a activación de granulocitos (como (1)-(6) anterior puede ser) o activación de células mononucleares, también experimentará alivio en tratamiento con los compuestos útiles de la invención debido a que el catabolismo ATP se espera durante una respuesta inflamatoria.

Pacientes que sufren de enfermedades que pueden asociarse con baja adenosina crónica tal como insomnio, autismo, esquizofrenia y parálisis cerebral, también se beneficiarán por el uso de la invención para incrementar las concentraciones de adenosina.

Además, tratamiento con compuestos de la inversión beneficiará pacientes que sufren de una variedad de enfermedades relacionadas a desgranulación de mastocitos. Incluyen individuos que sufren de alergias, particularmente asma, fiebres de heno, urticaria crónica, urticaria pigmentosa y eccema. Tanto AICA ribósido como rivabirina, por ejemplo suprimen la activación de mastocitos incluyendo la prevención de desgranulación de mastocitos. Actividad de mastocitos disminuida también

beneficiará pacientes con reducido flujo de sangre debido a que agentes liberados de mastocitos puedan incrementar daño durante isquemia a través de procesos tales como arritmias o espasmo de vasos.

5 Se anticipa que compuestos útiles en la invención se administrarán efectivamente en cantidades en el rango de aproximadamente 0.1 mg/kg/día a aproximadamente 500 mg/kg/día, de preferencia a aproximadamente 15 mg/kg/día a aproximadamente 200
10 mg/kg/día. Estos rangos de dosis deberá ser especialmente conveniente para compuestos útiles en la invención como agentes profilácticos para la prevención de daños de tejido asociado con flujo de sangre disminuido o restringido indeseable. El uso de menos aproximadamente
15 0.1 mg/kg/día de AICA ribósido o AICA ribótido, de preferencia aproximadamente 1.0 mg/kg/día a aproximadamente 500 mg/kg/día para la profilaxis y, más preferiblemente de aproximadamente 20 mg/kg/día a aproximadamente 100 mg/kg/día se anticipa adicionalmente.
20 También se contempla para la profilaxis la administración de ribavirina o monofostafo de ribavirina en una cantidad de menos aproximadamente 0.1 mg/kg/día de preferencia aproximadamente 1.0 mg/kg/día la aproximadamente 20 mg/kg/día. En el caso de tratamiento de enfermedades del
25 cerebro, tales como derrame cerebral, ataques, epilepsia,

ataque isquémico transitorio, autismo, esquizofrenia, parálisis cerebral e insomnio, una dosis mayor a 200-500 mg/kg/día puede requerir ser debido a la barrera de sangre/cerebro. El uso de pro-profármacos dirigidas al
 5 cerebro sin embargo puede permitir una menor dosis.

La Figura 1 ilustra las rutas por las cuales se forma adenosina y degrada dentro de las células. La adenosina puede transportarse en células o liberarse de las células. El metabolismo de adenosina puede utilizar
 10 algunas de estas dos rutas: 1, S-adenosilmetionina metiltransferasa; 2, S-adenosilhomocisteína hidrolasa; 3, adenosina deaminasa; 4, purina nucleósido fosforilasa; 5 y 6, xantina oxidasa; 7, mecanismos de transporte; 8, adenosina fosforilasa (no establecida en humanos); 9,
 15 adenosina cinasa; 10, 5' nucleotidasa y fosfatasa no específica; 11, adenilato cinasa; 12, nucleósido difosfocinasa; 13, adenilato ciclasa; 14, AMP deaminasa y
 15, adenilosuccinato sintetasa y adenilosuccinato liasa.

Como se describe con más detalle a
 20 continuación, los efectos del uso de los compuestos descritos, incluyendo los purina nucleósidos rivabirina y AICA ribósido en concentración extracelular de adenosina se han demostrado tanto *in vitro* como *in vivo*. Para suministrar éstas moléculas a pacientes, se
 25 anticipa que más a menudo se administran oralmente, ya

que los compuestos de la invención no se degradan fácilmente por enzimas extracelulares en el cuerpo o por exposición a bajo pH presenten el estómago. Estas profármacos también pueden administrarse intravenosamente, por inyección intramuscular directa, subcutáneamente, tópicamente a la piel o membranas mucosas, en forma rectal o por inhalación. Composiciones aceptables para uso farmacéutico son bien conocidas. También puede utilizarse profármacos, es decir aquellas que cuando se introducen en el cuerpo metaboliza a las formas activas de los compuestos reivindicados.

Debido a que la purina nucleósido AICA ribósido pues de metaboliza hace en ácido úrico, este agente puede ser utilizado con alopurinol u otras profármacos que evitan síntesis de ácido úrico, o con un agente uricosurico tal como probenid. Ciertos agentes tales como metotrexato y ribavirina cuyos metabolitos inhiben AICA ribótido transformilasa pueden provocar una elevación de AICA ribótido sintetizada en forma endógena y crear efectos similares a administrar el purina nucleósido. Administración con comitante de AICA ribósido o AICA ribótido con un inhibidor de AICA ribótido transformilasa deberán tener al menos efectos aditivos. Además, cualquiera de los intermediarios de síntesis purina nucleótido de novo (después de la primera

etapa cometida para la síntesis de purina) o sus nucleósidos o bases pueden asumirse que se convierten rápidamente en AICA ribótido. Un ejemplo es SAICA ribótido o su nucleósido o base.

5 Los compuestos pueden emplearse para mejorar concentraciones extracelulares de adenosina y por lo tanto para tratar enfermedades que surgen de, o se agravan por, insuficiente flujo de sangre a través de un órgano particular o su porción. Por ejemplo, derrames
10 cerebrales o ataques cardíacos, la enfermedad microvascular de diabetes mellitus (que puede afectar al cerebro, el riñón, el corazón, la piel, la retina y los nervios periféricos y sus microvasculaturas asociadas) o eventos que resultan en una pérdida menos prolongada de
15 flujo de sangre, tal como angina pectoris, ataques isquémico transitorios, isquemia intestinal, isquemia de riñón, claudicación intermitente de músculo esquelético, dolores de cabeza-migraña fenómenos de Raynaud's pueden tratarse al administrar los compuestos de la invención.
20 Se conoce que la adenosina tanto un vaso dilatador potente que actúa al reducir la contracción del músculo liso vascular y un inhibidor de producción de radical libres-granulocito, un proceso involucrado en lesión isquémica. Como se anotó, también será útil en el
25 tratamiento de arteriosclerosis.

Ante contacto con células, se considera que los compuestos útiles en la invención entran a la célula en donde pueden fosforilarse por adenosina cinasa o en el caso de administración de base, pueden convertirse en un nucleótidos por una enzima fosforibosil transferasa para dar por resultado un monofosfato purina nucleótido, y eventualmente el trifosfato nucleósido. La forma trifosfato puede comprender un conjunto para descomposición a la forma monofosfato.

Mientras que no se desea estar ligado por el siguiente modo de acción propuesto, se postula que los compuestos reinversión o sus metabolitos, inhiben una o más enzimas en la ruta biológicas de adenosina, incluyendo AMP deaminasa, de esta manera derivando ATP más hacia la producción celular, liberación y menos re captación de adenosina y derivar la lejos de, en forma concomitante la producción celular y la liberación de inosina.

Es importante notar que ribavirina no puede metaboliza arce en purina normales, es decir no se vuelve AMP, ADP, ATP, IMP, o los guanosina fosfatos GMP, GDP, o GTP. En otras palabras, los compuestos útiles en la invención podrán mejorar liberación de adenosina sin estar directamente metaboliza voz en adenosina. AICA ribósido tiene propiedades bioquímicas similares a

ribavirina y parece mejorar la liberación de adenosina por un mecanismo similar en vez de por una conversión indirecta a adenosina. Los compuestos se han mostrado que no actúan por el reabastecimiento de depósitos de ATP.

5 La Figura 1 muestra que adenosina se metaboliza primordialmente en cualquiera de dos rutas. Primero, como se muestra por la ruta 3, la adenosina puede ser catabolizada por la enzima adenosina deaminasa para formar inosina. Inosina entonces en su mayoría ya sea es
10 degradada adicionalmente por las enzimas representadas en las rutas 4, 5 y 6 o derivado fuera de la célula a través de la membrana plasma. Mecanismos de transporte 7 se muestran, que permiten el transporte de adenosina a través de la membrana de plasma celular en ambas
15 direcciones.

 La adenosina también puede anabolizarse por la enzima adenosina cinasa, representados por 9, en monofosfato de adenosina (AMP) o en S-adenosilhomocisteína por S-adenosilhomocisteína
20 hidrolasa, representado por 2 (dependiendo de la disponibilidad de homocisteína). La primera es una reacción que requiere de energía. AMP después es accionada por la enzima AMP deaminasa (14) para formar monofosfato de inosina (IMP) o adicional anabo por
25 diversas reacciones enzimática para formar trifosfato de



adenosina (ATP) o AMP cíclico. Inhibición de adenosina cinasa o S-adenosilhomocisteína hidrolasa puede llevar indirectamente una disminución en captación de adenosina.

Como referencia en los Ejemplos I-III en la liberación de adenosina, se muestra por los resultados en las FIGURAS 2, 3, 7-9 y Tabla 1, que la presencia de AICA ribósido durante catabolismo neta de ATP aumentan la liberación celular de adenosina y en forma concomitante disminuyen la liberación celular de inosina (ver Ejemplo IV y Figura 5) sugiriendo que hay inhibición de la conversión de AMP a IMP, o que hay inhibición de la conversión de adenosina en inosina.

Los experimentos de cultivo celular de los Ejemplos I y II muestran que AICA ribósido aumentar la liberación celular de adenosina incluso la presencia de 2-deoxicoformicina, un inhibidor potente de la enzima adenosina deaminasa. Esta manera, parece que los compuestos de la invención tienen su efecto en un punto en la ruta de adenosina diferente a o además de la reacción catalizada por la adenosina deaminasa. Se considera que inhiben la conversión de AMP en IMP al interferir con la acción de la enzima AMP deaminasa. La habilidad de los metabolitos son los compuestos de la invención para inhibir la enzima AMP deaminasa se evaluó en el Ejemplo VII, y los resultados se ilustran en la

Figura 6. AICA ribótido y un compuesto estructuralmente similar monofosfato de ribavirina, se mostró que tienen efectos inhibitorias similares en AMP deaminasa.

También es posible sin embargo que los
5 compuestos de la invención inhiban la conversión
enzimática de IMP en inosina por 5' nucleotidasa,
disminuyendo de esta manera la descomposición de IMP, el
resultado es un aumento en la cantidad de liberación
celular de adenosina. Además, los compuestos a la
10 invención puedan actuar para inhibir sus, en forma
directa o indirecta, la recaptación celular,
fosforilación o desaminación de adenosina.

En resumen, una ruta sugerida que permite el
efecto benéfico visto con compuestos útiles en la
15 intención es la entrada de estos compuestos en la célula,
en donde se ribosilan (si el anillo de azúcar aún no está
presente) y fosforilan (si aún no se fosforilan) en su
forma monofosfato. Las formas monofosfato de los
compuestos reivindicados inhiben AMP deaminasa. Durante
20 catabolismo de ATP, el depósito de AMP aumenta más en
células tratadas que en células sin tratar debido a que
AMP no es más capaz de moverse tan fácilmente en IMP. La
decisión de purina monofosfatos resulta en una liberación
celular mayor de adenosina con una liberación celular
25 menor concomitante de inosina. Debido a que la adenosina

parece ser un mediador benéfico natural durante ciertos eventos patológicos, la mejora de su liberación por canalización de ATP en adenosina en lugar de inosina es un método de tratamiento extremadamente importante.

5 Durante un ataque al corazón, la adenosina normalmente se libera y ayuda en mantener la abertura de los vasos isquémicos a través de vasodilatación e inhibición de producción de radical libre granulocito y taponamiento microvascular concomitante como se describe
10 a continuación. Los compuestos útiles reinvención mejora la liberación de adenosina y por lo tanto mejoran el efecto protector normal de adenosina durante este evento isquémico.

 Mientras que la liberación de adenosina en
15 ocasiones es un evento benéfico, altos niveles de adenosina en áreas en donde no se requieren, pueden ser nocivos. Una virtud de la invención descrita y reivindicada aquí es que el paciente no se trata con la propia adenosina y los compuestos útiles de la invención
20 aumentan selectivamente la liberación de adenosina de células en donde hay una descomposición neta de ATP. De esta manera, sólo las células en la vecindad son tratadas. Tratamiento de pacientes con compuestos útiles en la invención permite el hacer blanco de liberación de
25 adenosina mejorada específicamente ha tejido que se

somete a metabolismo de ATP neto, es decir ha tejido que requiere liberación de adenosina. Los efectos sistémicos su administración de adenosina se evitan. Además, la adenosina se libera sólo al tiempo específico que se
5 requiere. Todas las enfermedades y estados patológicos descritos por ilustrados aquí involucran o se considera que involucran a catabolismo de ATP neto localizado.

En forma adicional, células que responderán en forma benéfica adenosina responden más que si fueran
10 continuamente bañados con superiores concentraciones de adenosina. Debido a que la adenosina está disponible sólo en forma instantánea cuando se requiere, los receptores en las superficies de las células tales como granulocitos y células del músculo liso no se exponen en forma
15 continua y por lo tanto tiene una respuesta mucho mayor de que sus receptores de adenosina no se han reducido a su expresión por exposición continua de adenosina.

Además de actuar para provocar vasodilatación a través de la liberación adenosina, los compuestos de la
20 invención pueden incrementar flujo de sangre colateral por un segundo mecanismo. Estudios han mostrado que la región de flujo de sangre restringido, los granulocitos se activan, liberan radicales libres oxígeno y subsecuentemente se adquieren y dañan la
25 microvasculatura. Profármacos útiles en la invención a

través de liberación mejorado de adenosina evitan que los granulocitos produzcan los radicales libres y por lo tanto los granulocitos se adhieran menos en los microvasos (ver Ejemplo VIII), que permiten el flujo de sangre de los vasos colaterales al área bloqueada. Como se muestra por el Ejemplo IX, granulocitos etiquetados con indio sólo grabados por arrastre de corazones de perros tratados con AICA ribósido a una hora de la isquémica significativamente más que ser los tratados con salino, lo que lleva a un flujo de sangre colateral incrementado. De esta manera, la absorción de los compuestos de la invención por células musculares y/o endoteliales, seguido por liberación subsecuente de adenosina durante isquemia, deberá provocar dilatación y/o supresión de activación de granulocito e inhibir el taponamiento concomitante y daño de la microvasculatura, de esta manera llevando a una reducción en el daño al músculo cardíaco.

Como se ilustra por los ejemplos I-VI, IX, XIII, y XIV, un aspecto importante de los compuestos de la invención es que pueden administrarse como agentes profilácticos. Cuando la profármaco está presente con anticipación a un evento isquémico, actividad de ataque u otro estado corporal dirigido para tratamiento, la descomposición neta de ATP puede dirigirse en una gran

medida adenosina en vez de inosina.

Si la profármaco se introduce un paciente para alcanzar una región isquémica después o durante un evento provocando que esa isquemia, hay poca o ninguna habilidad para dirigir ATP a adenosina en ese sitio debido a que los depósitos de ATP objetivo se agotan en forma relativamente rápida. También, debido a que muchos de los eventos dañinos durante isquemia ocurren rápidamente, la profármaco deberá estar idealmente presente en el momento más temprano posible. Con la profármaco presente como un agente profiláctico, también hay la posibilidad de que el proceso que se busca interrumpir puede cerrarse suficientemente temprano para evitar cualquier daño permanente. Por ejemplo, el flujo sanguíneo micro vascular incrementado de vaso dilatación y disminuye la adherencia de leucocitos o glóbulos blancos puede mantener la abertura micro vascular, así como en un sentido ayudar a lavar por arrastre coágulos, material que promueve coagulación u otros agentes nocivos de las regiones arterioscleróticas próximas.

Otros factores hacen importante el administrar la profármaco antes o durante un evento isquémico. Si una profármaco se administra después de un bloqueo, es menos capaz de alcanzar el tejido involucrado debido a que haya poco o nada de flujo de sangre en ésta área. Ver ejemplo

III y Figura 4. También se considera que por ejemplo, AICA ribósido se metaboliza en AICA ribótido y que ésta es la formativa de la molécula. Esto es una reacción que requiere energía que utiliza ATP. Si ATP no está disponible debido a alta actividad metabólica y/o incrementada destrucción ATP, entonces en la AICA ribósido o una profármaco similar no puede hacerse en su forma activa. Además, durante rápida descomposición de ATP, la inosina en la célula puede ser significativamente competente con la profármaco para entrar en la célula, ambos compuestos son análogos purina nucleósido.

Además, compuestos de la invención se prevén benéficos en combinación con ciertas otras modalidades de tratamiento, se describe a continuación. Como compuestos de la invención, cuando se toma al profilácticamente, mejoran la liberación de adenosina durante un evento isquémico agudo, un paciente de ataque al corazón que se somete a este tratamiento tendrá una mayor posibilidad de no morir de una arritmia súbita antes de entrar a un hospital. Además, el lecho micro vascular será protegido durante el tiempo en que el paciente es que el tránsito al hospital y a antes de que pueda instituirse terapia adicional.

A menudo, un evento isquémico agudo es silencioso por cierto tiempo, y haya un retardo adicional

a antes de que el paciente se descuenta de lo que está
sucediendo y busque ayuda. Cuando la ayuda médica
alcanzase paciente, por supuesto, cuando una ambulancia
llega o cuando el paciente llega un hospital, al paciente
5 se le puede dar terapia trombolítica. La terapia
trombolítica, tal como la infusión de activador de
plasminogeno de tejido (t-PA = tissue plasminogen
activator), estreptocinasa, urocinasa o anti coagulantes
tales como heparina o coumadina, todo se dirigen a abrir
10 una oclusión próxima tal como ocurre durante un ataque al
corazón o derrame cerebral. Actualmente, el paciente
requiere recibir este tratamiento dentro de
aproximadamente cuatro horas de un evento isquémico
agudo. Después de varias horas, hay daño irreversible a
15 los tejidos, especialmente el lecho micro vascular. Si el
paciente toma profilácticamente AICA ribósido u otro
compuesto de la invención, el lecho micro vascular de
paciente se protegerá por más tiempo debido a la
presencia de adenosina mejorada.

20 La liberación de adenosina mejorada evita
producción de radical libre superóxido y/o taponamiento
del granuloso y daño a los micro vasos. Por lo tanto,
el paciente habrá de ser protegido por un más largo
periodo de tiempo después del evento isquémico agudo. Por
25 ejemplo, probablemente por 8 a 16 horas después de una

oclusión cardiovascular, aún sería posible instituir una de éstas terapias trombolíticas a fin de abrir una lesión próxima. De nuevo, abrir una lesión próxima sólo es benéficos si los micro vasos corriente abajo son capaces
5 de someterse a perfusión.

Compuestos útiles en la invención también serán benéficos en combinación con agentes trombolíticos, tales como activador de plasminogeno de tejido a como con otros agentes que ya son depuradores de radicales libres o
10 evitan la producción de radicales libres. Ejemplos de depuradores de radicales libres son superóxido dismutasa, una proteína que se somete infusión después de un evento isquémico, o materiales que tienen menos eficacia probada, tales como catalasa, acetilcisteína, (mucomyst),
15 vitamina E, glutatión y selenio. Ejemplos de compuestos que se considera evitan producción de radicales libres son alopurinol por su inhibición de xantina oxidasa, y ácido y eicosapentaónico por su reducción de expresión de metabolitos de prostaglandina y finalmente anticuerpos
20 contra ciertos receptores en granulocitos activados que evitan su adherencia en micro vasos. Compuestos útiles en la invención, a través de elevada adenosina, inhiben el sistema generador de radicales libres oxidasa NADPH de granulocitos y por lo tanto también pueden ser útiles
25 cuando se combina con agentes tales como alopurinol, que

inhiben producción de radicales libres de xantina oxidasa.

Otra enfermedad provocadas por o capaz de provocar flujo de sangre restringido es arritmia al miocardio. Aunque el flujo de sangre restringido puede
5 iniciar el inicio de arritmia, la causa precisa es desconocida. Sin embargo, se conoce que peroxidación de lípido por radicales oxígeno es arritmogénica. Ya que estos últimos se producen por granulositos, la inhibición
10 de producción de superóxido granulosito por el método de la invención puede esperarse que controle la arritmia. Además, más tocitos están en una concentración superior en áreas de arteriosclerosis. Supresión de su activación puede reducir la liberación de otros mediadores de
15 arritmias. La adenosina también tiene efectos anti arrítmicos directos en miocitos. El efecto profiláctico de tratamiento AICA ribósido en arritmia se demuestra por los Ejemplos VI y XIV, los resultados muestran un número disminuido de despolarización ventricular prematura y
20 episodios de taquicardias ventricular. El disparo rápido de cédulas durante arritmia provoca incrementado catabolismo neto de ATP y liberación de adenosina.

La adenosina liberada de cédulas neuronales cuando se estimulan y rompen ATP durante actividad de
25 ataque (epiléptico) normalmente retroalimentara y

suprimirá esta actividad de ataque (epiléptico). En la presencia de compuestos útiles en la invención, la cantidad de supresión de un evento de ataque deberá ser incrementada significativamente. El ejemplos XIII
5 demuestra que AICA ribósido provoca una incidencia disminuida y la atención prolongada a ataques inducidos por pentilen tetrazoles.

Pacientes que sufren enfermedades auto inmunes, artritis u otras condiciones inflamatorias también habrán
10 de experimentar alivios se tratan con purina nucleósido o análogos útiles en la invención debido a que el catabolismo de ATP se espera durante la excitación celular incrementada asociada con respuesta inflamatoria. Las enfermedades inflamatorias ocurren naturalmente en
15 los humanos y parecen involucrar una reacción inmunes a los propios tejidos del individuo. Para que se monte una respuesta auto inmune, se requiere que diferentes células inmunes interactúen para soportar la respuesta. De esta manera, productos químicos que interfieren con las
20 interacciones célula-célula necesaria puede esperarse que interfiera con el curso de la enfermedad. Un tipo de célula inmune necesario para la generación de una respuesta auto inmune es de linfocito. Debido a que adenosina es bien conocida como su persona de linfocitos,
25 el administrar compuestos útiles en la invención tales

como AICA a ribósido o rivavridina, deberá de inhibir o agotar esta población de células inmunes durante un episodio inflamatorio y de esta manera de beneficio terapéutico considerable a los afectados por enfermedad inflamatoria. También, como se anotó, la adenosina inhibe la producción de granulositos de radicales libres de oxígeno y adherencia a células endoteliales, ambas de las cuales aparecen ser factores importantes en muchos procesos inflamatorios, tales como enfermedades auto inmunes.

Condiciones potencialmente asociadas con baja adenosina crónica también pueden tratarse por compuestos de la invención. Estos estados patológicos incluyen autismo, insomnio, parálisis cerebral, esquizofrenia y otros síntomas neuropsiquiátricos. Se anticipar que dosis que está en el rango de 0.1 mg/kg/día a aproximadamente 200 mg/kg/día serán benéficas. Los resultados de pruebas terapéuticas con AICA ribósido en pacientes con deficiencia adenilosuccinasa (autismo) se ilustran en el ejemplo X. La administración oral de AICA ribósido a una sola dosis de 5 mg/kg/día, aumenta a 2^5 mg/kg/día y finalmente a 2^{10} mg/kg/día, mostró una mejora marcada en uno de dos pacientes, ambos pacientes se describen como "más agradablemente activos y más fáciles de manejar durante la terapia" por el padre, de esta manera

señalando su solicitud por reanudar la prueba. No se observaron efectos secundarios clínicos o bioquímicos, que sugiere que pueden administrarse dosis superiores con efectos benéficos adicionales.

5 Con respecto a desregulación de mastocitos
tratamiento con, por ejemplo AICA ribósido o rivavida
beneficiará a pacientes que sufren de una variedad
enfermedades. Por ejemplo, individuos que sufren de
alergias, particularmente asma, fiebre de heno
10 (incluyendo conjuntivitis alérgica y rinitis alérgica),
urticaria crónica, urticaria pigmentos y eczema, puede
esperarse que se beneficien de tratamiento con purina
nucleósido y análogo de purina nucleósido. Como se
discute por B. Banacerra y A. Unanue en Textbook of
15 Immunology (Williams & Williams Baltimore/London, 1979),
una clave para suprimir respuestas alérgicas es evitar la
liberación de sustancias farmacológicamente activas por
más tocitos. Los más tocitos son grandes cédulas de
tinción basofílica con extensos gránulos que contienen
20 sustancias, tales como histaminas que se libera por el
mastocitos durante una reacción alérgica y se requiere
que soporte la respuesta alérgica. La liberación de estas
sustancias farmacológicamente activas presentes en
mastocitos se denomina "desgranulación". De esta manera,
25 productos químicos que evitar la desgranulación deberán

tener un efecto benéfico para reducir la severidad de la respuesta alérgica. Como tal, pacientes que experimentan alergias pueden tratarse exitosamente con AICA ribósido o rivavida ya que estas moléculas evitan la desgranulación de mastocitos. La activación de mastocitos también provoca la liberación de prostaglandinas y leucotrienos (mediadores no preformados) tal como sustancia reactiva lenta de anafilaxis. Los purina nucleósidos y análogo útiles en la invención también evitan la liberación de sus mediadores de inflamación. Como se ilustra por ejemplo XI, el tratamiento profiláctico de mastocitos con rivavida exhibía una atenuación marcada de liberación beta-hexosaminidasa, los resultados establecen en las figuras 10 y 11. Los resultados del ejemplo XII, similarmente mostraron que AICA ribósido inhibe la activación (liberación leucotrieno C_4) y desgranulación (liberación beta-hexosaminidasa) de más tocitos.

La invención del solicitante se refiere al descubrimiento de concentraciones particularmente terapéuticas de AICA ribósido para la prevención del daño de tejido asociado con disminuido flujo de sangre en humanos, y la determinación de dosis que logra eficacia mientras que evita efectos secundarios indeseables. La invención de los solicitantes también se refiere al

descubrimiento de concentraciones particularmente terapéuticas y dosis de AICA ribósido que evita no reduce la severidad de resultados clínicos adversos, incluyendo eventos cerebro vasculares y/o cardiovasculares adversos en pacientes con riesgo de estos eventos. El solicitante ha descubierto que es preferible mantener una concentración intravascular de AICA ribósido de aproximadamente de 1 $\mu\text{g/ml}$ a aproximadamente 20 $\mu\text{g/ml}$, para obtener los efectos benéficos de AICA ribósido, y para evitar efectos secundarios que puedan ocurrir a superiores dosis. El solicitante ha descubierto que el rango ideal es aproximadamente de 3 a aproximadamente 6 $\mu\text{g/ml}$, y en especial aproximadamente 5 $\mu\text{g/ml}$.

De esta manera, en un primer aspecto, invención caracteriza un método para evitar daño de tejido asociado con disminuido flujo sanguíneo en humanos al administrar AICA ribósido a una persona en una cantidad que mantiene una concentración en plasma de sangre de AICA ribósido por un tiempo suficiente de manera tal que el riesgo de este daño de tejido se reduce en esta persona, de aproximadamente 1 $\mu\text{g/ml}$ a aproximadamente 20 $\mu\text{g/ml}$, de preferencia una concentración de aproximadamente 3 $\mu\text{g/ml}$ a aproximadamente 6 $\mu\text{g/ml}$, y más preferible de aproximadamente 5 $\mu\text{g/ml}$. Es conveniente que la concentración de AICA ribósido en la persona resultar en

una elevación de ácido úrico el suero a un nivel no mayor de aproximadamente 16.0 $\mu\text{g/ml}$ y más preferible no mayor a aproximadamente 9.0 $\mu\text{g/ml}$.

Por "evitar daño de tejido" se entiende reducir la frecuencia, duración y/o severidad de eventos isquémicos y/o reducir los efectos de flujo de sangre disminuido indeseable en el tejido. La incidencia, duración de severidad de eventos isquémicos pueden medirse por métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, en el uso de AICA ribósido durante cirugía de injerto de puente de arteria coronaria (CABG = coronary artery bypass graft), puedan emplearse los siguientes métodos: (1) comparación de cambios del segmento ST en registros electrocardiográficos Holter continuos; (2) evaluación del movimiento de pared regional por eco cardiografía transesofágica; (3) medición en serie de creatinina fosfoquinasa MB; y (4) análisis electrocardiográficos de 12 terminales en serie. Métodos para medir efectos nocivos de flujo de sangre disminuido indeseado también se conocen en la técnica. Efectos nocivos del daño de tejido pueden incluir resultados clínicos adversos, tales como eventos cardiovasculares y/o cerebro vasculares adversos incluyendo aquellos observados en conexión con cirugías CABG. Estos eventos adversos incluyen muerte cardíaca (es decir, muerte debido primordialmente a una

causa relacionada al corazón), infarto al miocardio transmural y/o no transmural, accidentes cerebro vascular, falla cardíaca congestiva y disrritmia que amenazan la vida, que puede ocurrir durante y/o siguiendo
5 después de esta cirugía. Otros resultados clínicos adversos que pueden evitarse por administración de AICA ribósido incluye relación hepática (documentada por elevación de enzimas), lesión pancreática (documentada por elevación de enzimas), coagulación intravascular
10 diseminada (incluyendo la debida a isquemia intestinal) y muerte (de causas no cardíacas). Al reducir el riesgo de daño de tejido se entiende disminuir la oportunidad de daño de tejido en comparación con la oportunidad que consiste si la administración de AICA ribósido. El uso de
15 AICA ribósido o sus profármacos también puede proteger al tejido de cerebro contra lección debido a disminuido flujo de sangre.

En un segundo aspecto, la invención caracteriza un método para evitar daño a tejido asociado con
20 disminuido flujo de sangre en humanos al administrar AICA ribósido por un tiempo suficiente para reducir el riesgo de este daño de tejido en una dosis desde aproximadamente 0.01 mg/kg/min a aproximadamente 2.0 mg/kg/min; de preferencia, de aproximadamente 0.05 mg/kg/min a
25 aproximadamente 0.2 mg/kg/min; y más preferible de

aproximadamente 0.1 mg/kg/min para pacientes anestesiados y aproximadamente 0.125 mg/kg/min para pacientes no anestesiados o aquellos pacientes anestesiados por un corto periodo de tiempo. En ciertas modalidades, el
5 tejido al cual se evita el daño es músculo cardíaco o microvasculatura cardíaca. En otras modalidades, el tejido al cual se evita el daño es tejido de cerebro o microvasculatura de cerebro.

En ciertas modalidades, el daño de tejido que
10 se evita es el daño de tejido que ocurre como resultado de flujo de sangre disminuido indeseable que ocurre durante cirugía, tal como durante cirugía cardíaca (por ejemplo cirugía CABG) o durante cirugía vascular. En estas modalidades, el compuesto puede administrarse
15 empezando brevemente antes de la introducción de anestesia, y continúa a través de la duración de la cirugía, y por aproximadamente una hora después del término de la cirugía, o por al menos aproximadamente siete horas después de finalizar la cirugía, o más,
20 dependiendo de factores tales como la duración de la cirugía.

En otra modalidad, el AICA ribósido se administran tanto un paciente que se somete a cirugía cardíaca y en la solución de perfusión empleada para
25 perfusión del corazón del paciente durante esta cirugía.

De preferencia, la concentración de AICA ribósido en la solución de perfusión este del rango de aproximadamente 5 μM a aproximadamente 100 μM , más preferiblemente a aproximadamente 20 μM .

5 En otra modalidad, AICA ribósido se administra en combinación o en conjunto con alopurinol, de preferencia en una cantidad de entre aproximadamente 100 mg/día aproximadamente 1200 mg/día y más preferible en una cantidad de aproximadamente 300 mg/día. Alopurinol
10 reduce los niveles de ácido úrico y de esta manera administrarse en combinación con o en conjunto con AICA ribósido (o una profármaco de AICA ribósido) para permitir la administración de una mayor dosis de AICA ribósido o profármaco mientras que evita efectos
15 secundarios adversos de niveles de ácido úrico incrementados. Como se anotó anteriormente, es conveniente que los niveles de ácido úrico no excedan aproximadamente 16 mg/dl, y de preferencia que no excedan aproximadamente 9mg/dl.

20 En otra modalidad, la invención además involucra la identificación de una persona que requiere evitar este flujo de sangre disminuido antes de administrar AICA ribósido (o su profármaco). Aquellos con destreza la técnica reconocerán por "identificación" se
25 pretende determinación de pacientes con riesgo de daño de

tejido, por ejemplo aquellos pacientes que se somete la
cirugía u otros procedimientos. Factores de riesgo para
aquellos pacientes que someten a cirugía cardíaca
incluyen edad elevada (por ejemplo con más de 70 años de
5 edad); emergencia o cirugía urgente, que puede
complicarse por angina inestable; angioplastia coronaria
transluminal percutánea fallida; función ventricular
izquierda disminuida (como se determina por una fracción
de expulsión con menos de aproximadamente 40%); falla
10 renal aguda o crónica; disrritmia (bajo tratamiento) o MI
dentro de los últimos varios años. Ver por ejemplo
Mangano, Anesthesiology 72:153-184 (1990). Factores de
riesgo para aquellos pacientes que se someten a cirugía
cardíaca incluyen edad elevada (por ejemplo sobre 65-70
15 años de edad); enfermedad cardíaca aterosclerósica, es
decir enfermedad de arteria coronaria, como se evidencia
por enfermedad vascular periférica o enfermedad de
arteria carótida; diabetes; falla renal; falla cardíaca
actualmente bajo terapia; hipertrofia ventricular
20 izquierda e hipertensión; hipertensión por más de 5 años;
emergencia o cirugía urgente; MI dentro de seis meses a
un año antes de cirugía; angina; arritmia o
hipercolesterolemia. La invención también incluye
identificación de pacientes que requieren administración
25 profiláctica de AICA ribósido debido a una condición

crónica, genética o similar, o debido a angina, ataque
isquémico transitorio, MI en evolución o reciente, o
derrame cerebral en evolución o reciente. De esta manera,
aquellos que se someten a cirugía pueden enfrentar un
5 riesgo incrementado por daño de tejido por igual

En otro aspecto, la invención caracteriza un
método para evitar daño de tejidos asociado con flujo de
sangre disminuido en un humano al administrar una dosis
total de AICA ribósido en una cantidad de 10 mg/kg a 200
10 mg/kg; de preferencia en una cantidad entre 30 mg/kg y
160 mg/kg. Para cirugía cardíaca, una cantidad preferida
es aproximadamente 40 mg/kg. Para otras indicaciones,
tales como cirugía no cardíaca, una cantidad preferida es
aproximadamente 120 mg/kg. Aquellos con destreza en la
15 técnica reconocerán que estas dosis totales pueden
lograrse al variar la concentración de AICA ribósido
administrado, la velocidad de administración y/o la
duración de administración.

En otro aspecto, la invención caracteriza un
20 método para evitar daño de tejidos asociado con flujo de
sangre disminuido indeseable en humanos al administrar
una profármaco de AICA ribósido en una cantidad efectiva
para proporcionar un nivel de plasma en la sangre de AICA
ribósido de semanalmente 1 $\mu\text{g/ml}$ a aproximadamente 20
25 $\mu\text{g/ml}$; de preferencia aproximadamente 3 $\mu\text{g/ml}$ a

aproximadamente 6 $\mu\text{g/ml}$ y más preferible aproximadamente 5 $\mu\text{g/ml}$. La cantidad de profármaco necesaria para lograr estos niveles se determina fácilmente por una persona con destreza técnica utilizando metodologías estándar. Una
5 profármaco puede administrarse en combinación con o en conjunto con alopurinol, de preferencia con alopurinol que se administra en una cantidad de aproximadamente 100 mg/día a aproximadamente 1200 mg/día, de preferencia en una cantidad de aproximadamente 300 mg/día. Esta
10 administración evitará efectos secundarios adversos de altos niveles de ácido úrico. Una profármaco puede administrarse como se describió anteriormente para el propio AICA ribósido.

En otro aspecto, la invención caracteriza un
15 método para evitar resultados clínicos adversos, incluyendo eventos cardiovasculares y/o cerebrovasculares adversos, en aquellos con riesgo de estos resultados, que comprende administrar AICA ribósido, o una profármaco del mismo en una cantidad que proporciona una concentración
20 de plasma en la sangre de AICA ribósido de entre aproximadamente 1 $\mu\text{g/ml}$ y aproximadamente 20 $\mu\text{g/ml}$, de preferencia entre aproximadamente 3 $\mu\text{g/ml}$ y aproximadamente 6 $\mu\text{g/ml}$, y más preferible aproximadamente 5 $\mu\text{g/ml}$. Por "resultado clínico adverso" se entiende un
25 evento que tiene un efecto clínicamente nocivo en un

paciente. Por "evento cardiovascular adverso" se entiende un evento que pertenece a los vasos sanguíneos o corazón que es nocivo para un paciente. Por "evento cerebrovascular adverso" se entiende un evento que pertenece a los vasos sanguíneos que afectan el cerebro que es nocivo para un paciente. La invención además involucra la identificación de un paciente con riesgo por resultados clínicos adversos, incluyendo eventos cerebrovasculares adversos y cardiovasculares adversos.

Factores de riesgo para aquellos pacientes que se someten a cirugía cardíaca incluyen edad elevada (por ejemplo aproximadamente 70 años de edad); cirugía de emergencia o urgente, que puede complicarse por angina inestable; angioplastia coronaria transluminal percutánea fallida; función ventricular izquierda disminuida (como se determina por una fracción de expulsión con menos de aproximadamente 40%); falla renal o crónica o aguda; disrritmia (bajo tratamiento) o MI durante los varios años recientes. Ver por ejemplo Mangano, Anesthesiology 72: 153-184 (1990). Factores de riesgo para aquellos pacientes que se someten a cirugía no cardíaca incluyen edad elevada (por ejemplo sobre 65 a 70 años de edad); enfermedad cardíaca aterosclerótica, es decir enfermedad de arteria coronaria, como se evidencia por enfermedad vascular periférica o enfermedad de arteria carótida;

diabetes; falla renal; falla cardíaca bajo terapia; hipertrofia ventricular izquierda e hipertensión; hipertensión por más de 5 años; emergencia o cirugía urgente; MI dentro de seis meses a un año antes de
5 cirugía; angina; arritmia o hipercolesterolemia. La invención también incluye identificación de pacientes que requieren administración profiláctica de AICA ribósido debido a una condición crónica, genética o similar, o debido a angina, ataque isquémico transitorio, MI en
10 evolución o reciente, o derrame cerebral en evolución o reciente. De esta manera, aquellos que no se someten a cirugía pueden enfrentar un riesgo incrementado para daño de tejido por igual

En otro aspecto, la invención caracteriza un
15 método para evitar resultados clínicos adversos, incluyendo eventos cardiovasculares y/o cerebrovasculares adversos, en aquellos con riesgo de estos eventos al administrar AICA ribósido por un tiempo suficiente para reducir el riesgo de estos eventos, en una dosis desde
20 aproximadamente 0.01 mg/kg/min a aproximadamente 2.0 mg/kg/min; de preferencia aproximadamente 0.05 mg/kg/min a aproximadamente 0.2 mg/kg/min; y más preferible de aproximadamente 0.1 mg/kg/min o 0.125 mg/kg/min, dependiendo de la anestesia.

25 En ciertas modalidades, el evento

cardiovascular adverso que se evita es infarto al miocardio. "Infarto al miocardio" incluye infarto al miocardio transmural o no transmural. En el caso de cirugía CABG, MI transmural se evidencia por la presencia
5 de una nueva onda Q en prueba ECG y una concentración de CK-MB elevada, MI no transmural se evidencia por concentración CK-MB elevada sin una nueva onda Q. En otras modalidades, el evento cardiovascular que se evita es muerte cardíaca. Por "muerte cardíaca" se pretende
10 muerte de un paciente por una causa cardíaca primaria, por ejemplo por infarto al miocardio, disrritmia o disfunción de ventrículo.

Otro aspecto de la invención proporciona un método para evitar o reducir efectos adversos en un
15 paciente que tiene un infarto miocardio al administrar una cantidad efectiva de acadesina o una profármaco, análogo o sal del mismo. En una modalidad, el infarto al miocardio ocurrió dentro de las últimas 24, 36 o 48 horas. Otras modalidad proporciona un método donde el
20 paciente es femenino y/o entre las edades de 65 y 95. En ciertas modalidades, el evento cerebrovascular es accidente cerebrovascular. Por "accidente cerebrovascular" se entiende lesión al cerebro asociada con disminuido flujo sanguíneo, por ejemplo derrame
25 cerebral. En ciertas modalidades, el riesgo de evento

cardiovascular o cerebrovascular adverso ocurre como resultado de indicaciones tales como angina o ataque isquémico transitorio. En otras modalidades, el riesgo de eventos cardiovasculares o cerebrovasculares adversos ocurre como resultado de cirugía cardíaca, por ejemplo cirugía CABG o como resultado de cirugía no cardíaca, por ejemplo cirugía vascular. En el caso de cirugía, el AICA ribósido puede administrarse empezando poco antes de la inducción de anestesia, y continúa por la duración de cirugía, por aproximadamente una hora después de terminada cirugía, o por aproximadamente 7 horas en total. Administración puede continuar por un tiempo mayor, por ejemplo 24 horas o más después de cirugía. Administración prolongada es especialmente efectiva para cirugía no cardíaca debido a que eventos adversos tienden a ocurrir posteriormente. Por ejemplo, se ha observado que en cirugía cardíaca, MI tiende a ocurrir primordialmente en el primer día después de cirugía, sin embargo en cirugía no cardíaca, MI tiende a ocurrir primordialmente en el segundo o tercer día después de la cirugía. De esta manera, en el caso de cirugía no cardíaca, AICA ribósido (o una profármaco) se administra por un período más prolongado después de cirugía, por ejemplo por 7-48 horas.

Otro aspecto de la invención proporciona un

método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente que se somete a cirugía no vascular en al administrar una cantidad efectiva de acadesina, o su profármaco, análogo o sal. Cirugía no vascular incluye

5 cirugía abdominal, neurológica, ginecológica, ortopédica, urológica y otolaringológica. Más específicamente, la cirugía no vascular incluye resección de intestino delgado y grueso, apendectomía, laparoscopia, paracentesis, resección transuretral de próstata (TURP =

10 Transurethral Resection of the Prostate), histerectomía, ligadura de trompas, vasectomía, salpingo-ooforectomía, sección cesárea, hemorroidectomía, tonsilectomía, miringodectomía, colocación de tubos de miringotomía, eliminación de pólipo(s) del colon y recto, preparación

15 de prolapso rectal, remoción y tratamiento de neoplasmas del intestino, curetaje, toracéntesis, toracotomía, rinoplastia, liposucción y semejantes.

En otra modalidad, el AICA ribósido se administra tanto un paciente que se somete a cirugía

20 cardíaca y la solución de perfusión empleada para el tratamiento del corazón del paciente durante dicha cirugía. De preferencia, la concentración de AICA ribósido en la solución de perfusión está en el rango de aproximadamente 5 μM a aproximadamente 100 μM , más

25 preferible a aproximadamente 20 μM .

En otra modalidad, AICA ribósido se administra en combinación o en conjunto con alopurinol, de preferencia en una cantidad de entre aproximadamente 100 mg/día y aproximadamente 1200 mg/día, y más preferible en una cantidad de entre aproximadamente 300 mg/día. En otra modalidad, la invención proporciona un método para evitar o reducir la ocurrencia de un evento cardiovascular o cerebrovascular adverso en un paciente que se somete a cirugía CABG, este método comprende las etapas de: (a) administrar al paciente 0.1 de AICA ribósido intravenosamente por aproximadamente 7 horas perioperativamente; (b) someter a perfusión al corazón del paciente con una solución de perfusión de AICA ribósido 20 μ M. Todavía otro aspecto de la invención proporciona un método para evitar derrame cerebral en un paciente que se somete a CABG al administrar una cantidad efectiva de acadesina, o su profármaco, análogo o sal.

En otro aspecto, la invención caracteriza un método para evitar o reducir la severidad de infarto del miocardio en un humano con riesgo de infarto al miocardio, éste método comprende administrar AICA ribósido o una profármaco del mismo al humano en una cantidad que proporciona una concentración de plasma en la sangre de AICA ribósido en un humano entre aproximadamente 3 μ g/ml y aproximadamente 6 μ g/ml por un

tiempo suficiente para reducir el riesgo del infarto al miocardio. Riesgo incrementado de infarto al miocardio puede resultar de cirugía, ya sea cirugía cardíaca, tal como cirugía CABG, o cirugía no cardíaca, tal como
5 cirugía vascular, o de factores diferentes a cirugía, por ejemplo indicaciones de isquemia reversible, tales como angina o isquemia silenciosa, o MI o derrame cerebral en evolución o reciente.

En otro aspecto, la invención caracteriza un
10 método para evitar o reducir la severidad de accidente cerebrovascular en un humano con riesgo de accidente cerebrovascular, éste método comprende administrar AICA ribósido o una profármaco del mismo al humano en una cantidad que proporciona una concentración en plasma de
15 sangre de AICA ribósido en el humano de entre aproximadamente 3 $\mu\text{g/ml}$ y aproximadamente 6 $\mu\text{g/ml}$ por un tiempo suficiente para reducir el riesgo de accidente cerebrovascular. Riesgo incrementado de accidente cerebrovascular puede resultar de cirugía, ya sea
20 cardíaca (tal como cirugía CABG) o no cardíaca (tal como cirugía vascular), o de riesgos no quirúrgicos tales como ataque isquémico transitorio.

En otra modalidad, la invención caracteriza un método para evitar o reducir la severidad de muerte
25 cardíaca, este método comprende administrar AICA ribósido

o una profármaco del mismo al humano en una cantidad que proporciona una concentración de plasma en la sangre de AICA ribósido en el humano de entre aproximadamente 3 $\mu\text{g/ml}$ y aproximadamente 6 $\mu\text{g/ml}$, de preferencia
5 aproximadamente 5 $\mu\text{g/ml}$, por un tiempo suficiente para reducir el riesgo de la muerte cardíaca. Riesgo incrementado de muerte cardíaca puede resultar de cirugía, cardíaca o no cardíaca. Por ejemplo, el riesgo puede resultar de cirugía CABG.

10 El AICA ribósido puede administrarse en forma continua por una pluralidad de dosis. Para reducir el riesgo del año tejido, el AICA ribósido puede administrarse por un periodo de al menos aproximadamente 15 minutos. Puede administrarse por una duración mayor
15 aproximadamente 4 horas y de preferencia por una duración de aproximadamente 7 horas en total. En otros casos, el AICA ribósido puede administrarse por una duración mayor a aproximadamente 10, 12, 16, 24 o incluso aproximadamente 48 horas.

20 El AICA ribósido puede administrarse intravenosamente, por infusión intracoronaria o intraarterial, oralmente, o por cualquier otro de los métodos conocidos en la técnica, incluyendo introducción en la sangre del paciente en un circuito extracorpóreo,
25 por ejemplo utilizando una máquina corazón-pulmón o

diálisis. AICA ribósido puede administrarse profilácticamente o en respuesta a una condición corporal conocida.

5 En una modalidad, AICA ribósido se prepara como una solución terapéutica a partir de una forma liofilizada para evitar decoloración variable de una formulación líquida que se observa durante almacenamiento. De preferencia, el AICA ribósido no es pirogénico.

10 Otro aspecto proporciona una formulación farmacéutica que comprende acadesina o una profármaco análogo o sal del mismo, y un portador diluyente de excipiente farmacéuticamente aceptable, en donde la formulación proporciona un paciente que requiere una
15 concentración de acadesina de plasma en la sangre o una profármaco, análogo o sal del mismo, entre aproximadamente $1\mu\text{m}/\text{ml}$ a aproximadamente $20\mu\text{m}/\text{ml}$ por una cantidad de tiempo suficiente y la formulación es lipofílica. En una modalidad, la cantidad de tiempo es
20 aproximadamente 7 horas. En otra modalidad, la formulación farmacéutica está en forma de micelo.

En otro aspecto, la invención caracteriza un equipo para utilizar en administrar AICA ribósido a un paciente que se somete cirugía cardíaca, por ejemplo
25 cirugía CABG, que comprende AICA ribósido liofilizado

para utilizar en preparar una solución de AICA ribósido para infusión intravenosa en un paciente que se somete cirugía cardíaca, y AICA ribósido es solución para utilizar en preparar una solución de perfusión cardioplégica para utilizarse en perfusión del corazón de un paciente que se somete cirugía cardíaca. De preferencia, el AICA ribósido no es pirogénico. De preferencia, el AICA ribósido liofilizado se proporciona en una cantidad de 100 mg/día a 2,000 mg/día, más preferiblemente en una cantidad de 500 mg/día. De preferencia, el AICA ribósido en solución se proporciona en un volumen de 1 ml a 20 ml; más preferiblemente 5 ml. De preferencia, la concentración del AICA ribósido en solución es aproximadamente 1 mg/ml.

EL AICA ribósido liofilizado puede combinarse con un diluyente conveniente tal como agua o solución salina para ponerlo en forma conveniente para infusión en el paciente.

El AICA ribósido en solución puede estar una solución de agua, solución salina o solución cardioplégica. El AICA ribósido es solución es de una concentración adecuada para agregar a una solución de perfusión cardioplégica tal que la concentración final de AICA ribósido en la solución cardioplégica es de 5 μM a 100 μM , de preferencia 20 μM . Por ejemplo, si 5 ml de 1

mg/ml de AICA ribósido se agrega a un litro de solución de perfusión cardioplégica, el concentrado resultante será aproximadamente 5 $\mu\text{g/ml}$ o 20 μM .

Una de las ventajas del descubrimiento de los
5 solicitantes de las concentraciones y dosis terapéuticas particularmente útiles de AICA ribósido es que puede obtenerse eficacia a dosis de las cuales los efectos secundarios de niveles de ácido úrico urinarios o en suero elevados y/o cristaluria se reducen, si no se
10 evitan por completo y que evitan disminuir los niveles de glucosa en la sangre.

El solicitante ha descubierto que menores dosis de AICA ribósido se requieren para lograr los niveles de concentración en sangre deseados en pacientes
15 anestesiados que en pacientes no anestesiados. Parece ser que la dosis requerida en pacientes anestesiados puede ser aproximadamente 20-50% menos que la dosis requerida en pacientes no anestesiados. Esta manera, una dosis preferida de AICA ribósido (o profármaco) en un paciente
20 no anestesiado o un paciente anestesiado por un corto tiempo es mayor que la dosis preferida para un paciente anestesiado. Acuerdo con esto, dosis de aproximadamente 0.075 mg/kg/min a aproximadamente 0.30 mg/kg/min se prefieren en estos casos, más preferible entre
25 aproximadamente 0.10 mg/kg/min y aproximadamente 0.15

mg/kg/min, y más preferiblemente de aproximadamente 0.125 mg/kg/min.

Definiciones

Como se utiliza aquí, los siguientes términos
5 tienen los siguientes significados, a menos que se exprese lo contrario.

El término "hidrocarbilo" se refiera a un radical orgánico que comprende principalmente carbón e hidrógeno e incluye grupos alquilo, alquenilo y alquinilo, así como también grupos aromáticos incluyendo
10 grupos arilo y aralquilo y grupos que tienen una mezcla de enlaces saturados e insaturados, grupos alicíclicos (carbocíclico o cicloalquilo) o dichos grupos sustituidos con arilo (aromáticos) o combinaciones de los mismos y se
15 pueden preferir a una cadena-sencilla, cadena-ramificada o estructuras cíclicas o para radicales que tienen una combinación de la misma.

El término "alquilo" se refiere a grupos alifáticos saturados, incluyendo grupos sencillos, ramificados y carbocíclicos. El término "alquilo
20 inferior" se refiere tanto grupos alquilo de cadena sencilla y cadena ramificada que tienen un total de desde 1 a 6 átomos de carbono e incluyen grupos alquilo primarios, secundarios y terciarios. Típicos alquilos
25 inferiores incluyen por ejemplo metilo, etilo, n-propilo,

isopropilo, n-butilo, isobutilo, t-butilo, n-pentilo, n-hexilo y semejantes.

El término "arilo" se refiere a grupos aromáticos que tienen desde aproximadamente 6 a 14 átomos de carbono e incluyen sistemas aromáticos cíclicos tales como fenilo y naftilo.

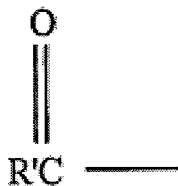
El término "aralquilo" se refiere a un grupo alquilo de aproximadamente 1 a 4 átomos de carbono sustituidos con un grupo arilo de desde aproximadamente 6 a 10 átomos de carbono e incluye, por ejemplo, bencilo, p-clorobencilo, p-metilbencilo y 2-feniloetilo.

El término "alquenilo" se refiere a grupos alquilo insaturados que tienen al menos un enlace doble, por ejemplo $\text{CH}_3\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_2-$ e incluye grupos alquenilo de cadena sencilla y de cadena ramificada.

El término "alquinilo" se refiere a grupos insaturados que tienen al menos un enlace triple, por ejemplo $\text{CH}_3\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_2-$ e incluye grupos alquenilo de cadena sencilla y de cadena ramificada.

El término "halo" o "halógeno" se refiere a fluoruro, cloruro, bromuro y yoduro.

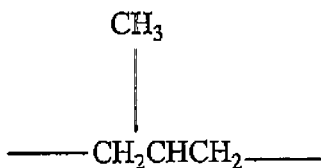
El término "acilo" se refiere al grupo



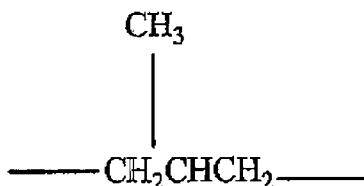
en donde R¹ es hidrocarbilo.

5 El término "alquilenos" se refiere a grupos alquilenos de cadena sencilla, cadena ramificada y carbocíclicos, que son biradicales, e incluyen, por ejemplo, grupos tales como etileno, propileno, 2-metilpropileno (por ejemplo

10



15 1,6-n-hexileno, 3-metilpentileno (por ejemplo

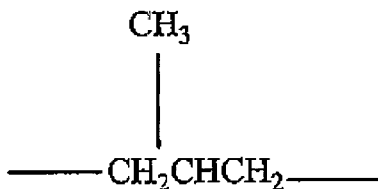


20

1,4-ciclohexileno, y semejantes.

El término "amida" o "amido" se refiere al grupo

25



en donde cada R" es independientemente hidrógeno o
 5 hidrocarbilo, o a los compuestos que tienen al menos uno
 de tal grupo.

El término "carboxamida" se refiere al grupo



en donde cada R" es independientemente hidrógeno o
 hidrocarbilo. El término "carboxamida sin sustituir" se
 15 refiere al grupo

El término "aciloamino" se refiere al grupo



en donde R' es hidrocarbilo.

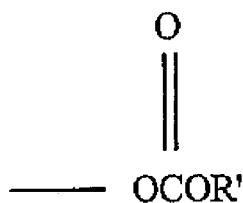
El término "aciloamino inferior" se refiere a
 grupos aciloamino en donde R' es alquilo de 1 a 6 átomos
 25 de carbono.

El término "carbonato éster" se refiere al grupo



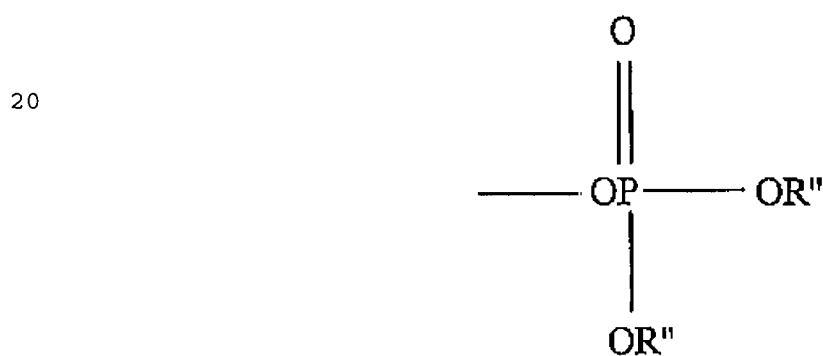
en donde R' es hidrocarbilo o a compuestos que tienen al menos un grupo tal.

10 El término "acilo éster" se refiere al grupo



15 en donde R' es hidrocarbilo o a compuestos que tienen al menos un grupo tal.

El término "fosfato éster" se refiere al grupo

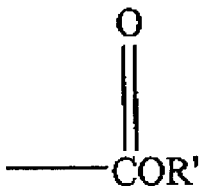


25

en donde R" independientemente es hidrógeno o hidrocarbilo y/o a compuestos que tienen al menos un grupo tal e incluye sus sales.

El término "éster mixto" se refiere a
 5 compuestos que tienen al menos un grupo éster carbonato y al menos un grupo acil éster o a compuestos que tienen combinaciones de diferentes grupos acil éster o carbonato éster.

El término "éster de ácido carboxílico" o
 10 "carboxi éster" se refiere al grupo



15

en donde R es hidrocarbilo o a compuestos que tienen al menos un grupo tal.

El término "AICA ribósido carbocíclico" se refiere a un análogo de AICA ribósido en donde el átomo
 20 de oxígeno en el anillo ribosilo ha sido reemplazado por un metileno (--CH₂ --).

El término "hidrocarbilooxi" se refiere al grupo en donde R' es hidrocarbilo.

El término "alcoxi" se refiere al grupo en
 25 donde R' es alquilo.

El término "hidrocarbilotio" se refiere al grupo que tienen la fórmula en donde R' es hidrocarbilo.

El término "hidrocarbiloamino" se refiere a los grupos en donde R' es un grupo hidrocarbilo
5 independientemente seleccionado.

El término "hidrocarbiloimidato" se refiere al grupo



en donde R" es hidrocarbilo.

El término "carboxamidaoxima" se refiere al grupo



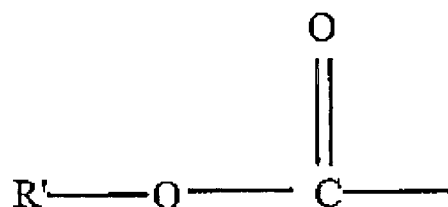
El término "hidrocarbilooxiamidina" se refiere
20 al grupo



25 en donde R' es hidrocarbilo.

El término "hidrocarbilooxicarbonilo" se refiere al grupo

5

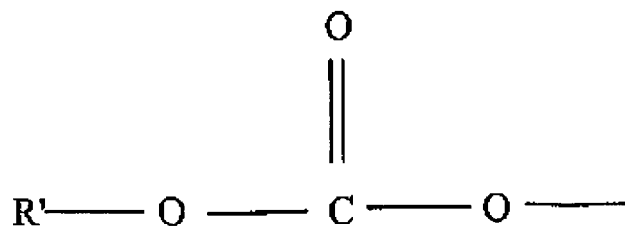


en donde R' es hidrocarbilo.

10

El término "hidrocarbilooxicarboxi" se refiere al grupo

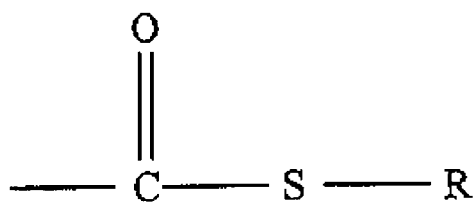
15



en donde R' es hidrocarbilo.

El término "tioéster" se refiere al grupo

20



25

en donde R' es hidrocarbilo.

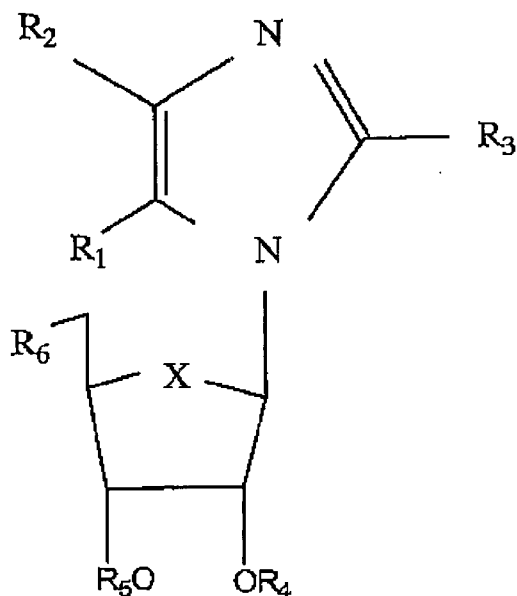
Análogos AICA Ribósido Preferidos

De acuerdo con la presente invención, análogos preferidos de AICA ribósido incluyen compuestos de la fórmula I

5

10

15



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde X es --O-- o -CH₂ --; R₁ es hidrógeno, amino, hidrocarbiloamino, aciloamino, o dihidrocarbiloaminoalquiloenimino; R₂ es hidrógeno, ciano, hidrocarbiloimidato, carboxamidaoxima, hidrocarbilooxiamidina, carboxamida, o ácido carboxílico o una amida, éster, tioéster o sal del mismo; R₃ es hidrógeno, hidrocarbilo, amino, hidrocarbiloamino, halógeno, hidroxí (incluyendo 2-imidazolona tautomérica),

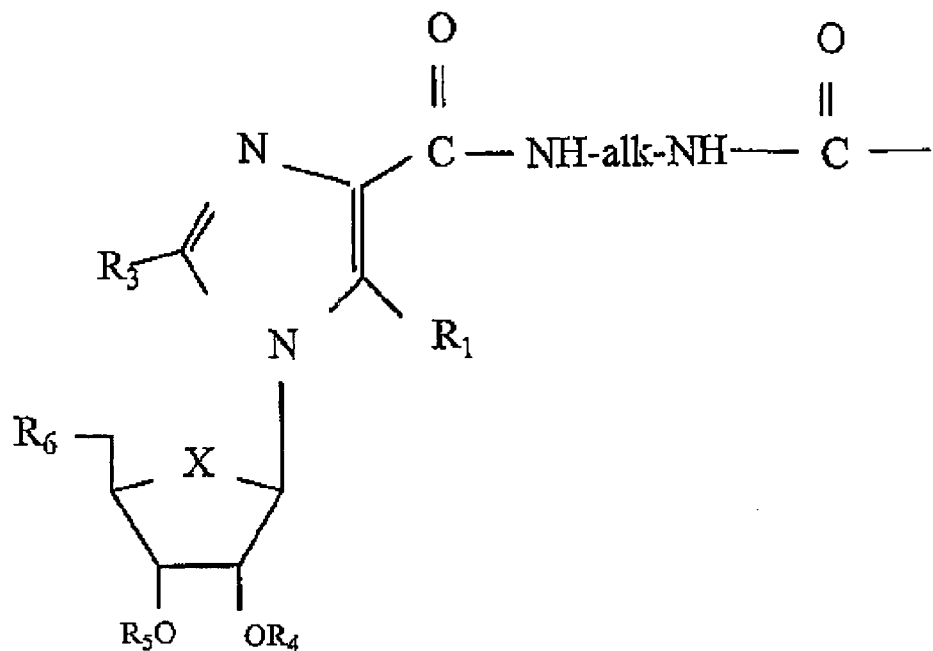
hidrocarbilooxi, sulfhidrilo (incluyendo 2-imidazoltion
 tautomérica), o hidrocarbilotio; R_4 y R_5 son
 independientemente hidrógeno, alquilo, acilo o
 hidrocarbilooxicarbonilo; R_6 es hidrógeno, hidrocarbilo,
 5 halógeno, hidroxilo, hidrocarbilooxi, sulfhidrilo,
 hidrocarbilotio, sulfamiloxi, amino, hidrocarbiloamino,
 azido, aciloxi o hidrocarbilooxicarboxi o grupo fosfato
 éter o sus sales; siempre que cuando R_1 es amino, R_2 es
 carboxamida sin sustituir, R_3 es hidrógeno; R_4 y R_5 son
 10 hidrógeno, acilo o hidrocarboxicarbonilo; luego R_6 no es
 hidroxilo, aciloxi o hidrocarbilooxicarboxi.

En forma alterna R_2 puede ser un grupo de la
 fórmula:

15

20

25



en donde R_1 , R_3 , R_4 , y R_5 y R_6 son como se definió
previamente en conjunto con la fórmula (I) y alk es un
grupo alquileo de 2 a 8 átomos de carbono. Grupos alk
5 convenientes incluyen n-hexileno y 1,4-ciclohexileno. Ya
que los compuestos de la fórmula anterior en donde R_3 es
hidroxi o sulfhidrilo pueden existir en sus formas
isomérica (tautomérica) imidazol-2-ona e imidazol-2-
tiona, estos isómeros se pretenden incluidos en el ámbito
10 de la fórmula I.

Compuestos preferidos incluyen aquellos en
donde (i) R_1 es amino, R_2 es carboxamida en donde uno de
los hidrógenos de amida se reemplaza por un grupo
hidrocarbilo, más preferiblemente un grupo aralquilo (tal
15 como grupo hidrocarbilo o aralquilo está opcionalmente
sustituido, sustituyentes convenientes incluyen aquellos
establecidos a continuación); R_3 es hidrógeno, R_4 y R_5 son
hidrógeno o hidrocarbilo oxycarbonilo, más preferiblemente
y R_6 es hidroxi o amino (Serie I); (ii) R_1 es amino, R_2 es
20 carboxamida, R_3 es halógeno o sulfhidrilo, R_4 es
hidrógeno, R_5 es hidrógeno y R_6 es hidroxi (Serie II);
(iii) R_1 es amino, R_2 es carboxamida; R_3 , R_4 y R_5 son
hidrógeno y R_6 es amino (Serie III) y (iv) R_1 es amino, R_2
es carboxamida, R_3 es hidrógeno, R_4 es alquilo, R_5 es
25 hidrógeno y R_6 es hidroxi (Serie IV).

En particular, en vista de su demostración de actividad en diversos modelos experimentales, con compuestos preferidos incluyen los compuestos números 10, 23, 25, 29, 47, 52, 53 (Serie I), 27, 43 (Serie II), 21, 5 66 (Serie III) y 20, 34 (GP-1-250) y 32 (GP-1-262) (Serie IV) de las Tablas XII y XIII.

Análogos AICA Ribósido Novedosos Preferidos

Un grupo preferido de la presente invención de la fórmula I incluye ciertos compuestos análogos AICA
 10 ribósido en donde X es --O-- o -CH₂ - ; R₁ es amino y hidrocarbilamino o dihidrocarbilaminoalquilineimino, R₂ es carboxamida en donde uno de los hidrógenos de amida (conectado al átomo de nitrógeno) se reemplaza
 15 opcionalmente por alquilo, cicloalquilo, o arilo o aralquilo, opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno y alquilo, arilo, nitro, amino, hidrocarbilamino, sulfhidrilo, hidrocarbilitio, hidroxilo, hidrocarbilo, trifluorometilo, o sulfonamida; R₂ es
 20 carboxamida en donde ambos hidrógenos de amida se reemplazan por alquilo o punto por un grupo alquilenos o aralquilenos para formar un anillo; o R₂ es ~C(O)~S~R₇ en donde R₇ es alquilo, cicloalquilo, aril o aralquil
 25 opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, alquilo,

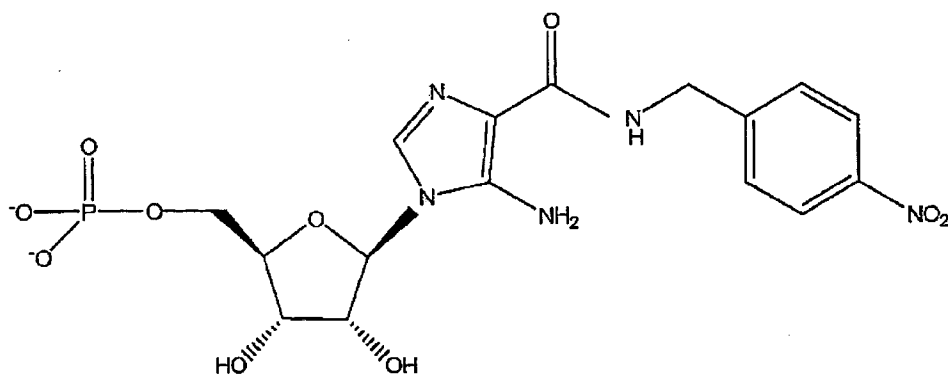
arilo, nitro, amino, hidrocarbíl amino, sulfhidrilo,
 hidrocarbílthio, hidroxí, hidrocarbílloxi, trifluorometil
 o sulfonamida; o además R_2 es un grupo de la fórmula II
 en donde R_1 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 son como se definió con la
 5 fórmula I y alk es alquileo de 2 a 8 átomos de carbono;
 R_3 es hidrógeno y amino, hidrocarbíl amino, halógeno,
 hidroxí incluyendo imidazolona tautomérica) hidrocarbilo,
 sulfhidril (incluyendo 2 imidazoltionona tautomérica) o
 hidrocarbílthio; R_4 y R_5 independientemente son hidrógeno,
 10 hidrocarbíl (de 1 a aproximadamente 18 átomos de carbono)
 acilo o hidrocarbílloxicarbonilo; y R_6 es hidroxí,
 hidrógeno, hidrocarbilo, halógeno, hidrocarbílloxi,
 sulfhidrilo, hidrocarbílthio, sulfamiloxi, amino,
 hidrocarbíl amino, azido, aciloxi, hidrocarbílloxicarboxi o
 15 fosfato éster o su sal; siempre que cuando X es $-O-$ o
 CH_2 , R_1 es amino, R_2 es carboxamida sin sustituir, R_3 es
 hidrógeno R_4 y R_5 independientemente son hidrógeno y acil
 o hidrocarbílloxicarbonilo, después R_6 no es hidrógeno,
 hidroxí, aciloxi o hidrocarbílloxicarboxi o cuando R_4 y R_5
 20 son ambos hidrógeno, entonces R_6 no es un fosfato éster;
 cuando X es oxígeno, R_1 es amino, R_2 es carboxamida sin
 sustituir, R_3 es sulfhidrilo y R_4 y R_5 son ambos
 hidrógeno, Entonces R_6 no es acetoxi; cuando X es oxígeno
 R_1 es amino, R_2 es carboxamida sin sustituir y R_3 es
 25 cloro, bromo, amino o metoxi, y R_4 y R_5 ambos son

hidrógeno, entonces R_6 no es hidroxilo o cuando R_4 y R_5 son
 ambos acetilo, entonces R_6 no es acetoxi; y además
 siempre que cuando X es oxígeno R_1 es amino, R_2 es bencil
 carboxamida o p-yodofenilcarboxamida, R_3 es hidrógeno
 5 entonces R_4 y R_5 no son ambos hidrógeno y R_6 no es
 hidroxilo; o cuando R_2 es p-yodofenilcarboxamida, entonces
 R_4 y R_5 no son ambos acetilo y R_6 no es acetoxi.

Compuestos preferidos incluyen aquellos en
 donde R_1 es amino, R_2 es carboxamida sustituida con un
 10 grupo aralquilo, más preferiblemente un grupo bencilo,
 que tiene de uno a tres sustituciones de anillo como se
 describe anteriormente, o cicloalquilo. En vista de su
 actividad en diversos modelos experimentales, compuestos
 preferidos incluyen los compuestos números 23, 25, 29,
 15 47, 52 y 53.

Un ejemplo de un compuesto especialmente
 preferido es un compuesto en donde X es oxígeno, R_1 es
 amino, R_2 es p-clorobencilcarboxamida, R_3 , R_4 y R_5 son
 hidrógeno y R_6 es amino o sus sales. Una sal
 20 particularmente preferida es la sal de hidrocloreto.
 Otras sales particularmente preferidas son sales de sodio
 y potasio, en especial disodio y monopotasio.

Un análogo AICA ribósido preferido es un
 compuesto representado por la fórmula (Ia)



5 (Ia)

En una modalidad, la invención proporciona una profármaco, análogo o sal del compuesto de la fórmula Ia.

En un aspecto, la invención proporciona equipo para administrar el compuesto de la fórmula Ia, o una
 10 profármaco, análogo o sal del mismo, a un paciente que se somete a cirugía cardíaca que comprende una forma leofilizada del compuesto de la fórmula Ia o una profármaco, análogo o sal del mismo para infusión en el paciente y el compuesto de la fórmula Ia o una
 15 profármaco, análogo o sal del mismo en solución para perfusión en el corazón del paciente. En otro aspecto, la invención proporciona un equipo para administrar el compuesto de la fórmula Ia, una profármaco análogo o sal del mismo a un paciente que comprende un recipiente

estéril de compuesto lefofilizado representado por la fórmula Ia, o una profármaco, análogo o sal del mismo.

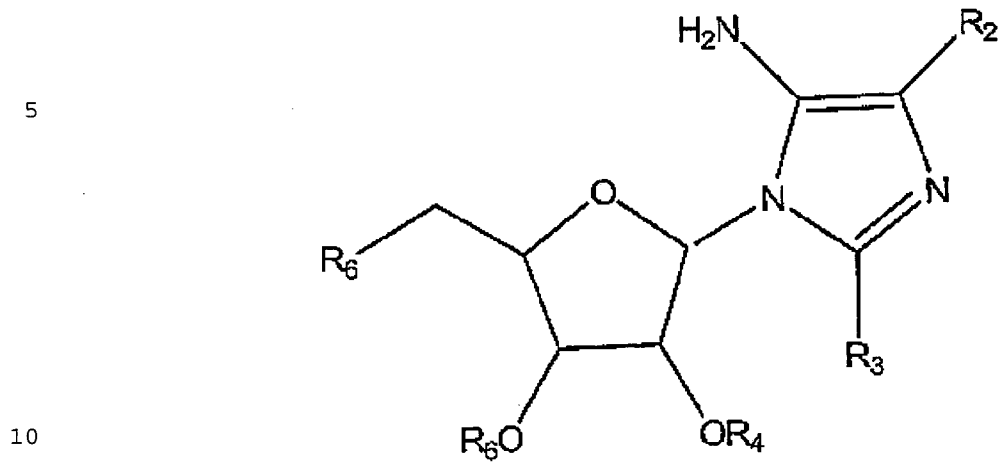
En una modalidad, la invención proporciona una solución cardioplégica que comprende una composición que
5 comprende el compuesto de la fórmula Ia.

En otra modalidad, la invención proporciona un método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente que se somete en cirugía CABG que comprende administrar perioperativamente al paciente una cantidad
10 efectiva de una composición que comprende el compuesto de la fórmula Ia, o una profármaco, análogo o sal del mismo.

En otra modalidad, la invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende el compuesto de la fórmula Ia, o una profármaco, análogo o sal del mismo, y
15 al menos un portador diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. En una modalidad, la formulación proporciona a un paciente que lo requiere con una concentración de plasma-sangre de entre aproximadamente 1 $\mu\text{g/ml}$ y aproximadamente 20 $\mu\text{g/ml}$ sobre
20 un periodo de tiempo suficiente. En otra modalidad, el periodo de tiempo es aproximadamente 7 horas. En otra modalidad, la formulación se adapta para administración oral. En otra modalidad, la formulación se adapta para administración oral en una forma de dosis sólida.

25 En otro aspecto, la invención proporciona una

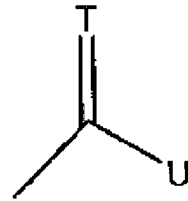
solución cardioplégica que comprende una composición que comprende un compuesto representado por la fórmula (IIa)



(IIa)

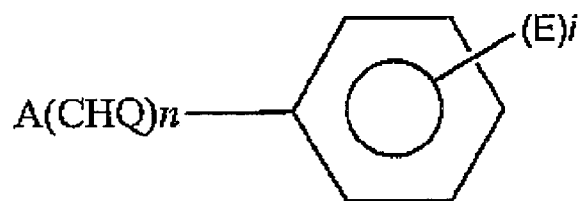
en donde R₂ se elige del grupo que consiste de hidrógeno, --CN y el grupo

15



20 en donde T se elige de oxígeno, azufre NOH, NH y NO(CH₂)_n, CH₃ en donde n es de 0 a 2) y U se elige de alcoxi inferior, amino, un anillo heterocíclico de 3 a 6 miembros opcionalmente fusionado a un anillo arilo de 3 a 6 miembros y el grupo

25



en donde A es uno de NH y S, n es de 0 a 3, i es de 0 a
 5 2, Q es uno de hidrógeno e hidroxil, y E representa un
 grupo nitro o hidroxil siempre que cuando Q es amino, T no
 es uno de azufre NOH, NH, y NOCH₃ ; en donde T es amino,
 U no es alcoxi inferior; y en donde A es amino y n es 1,
 Q no es hidroxil;

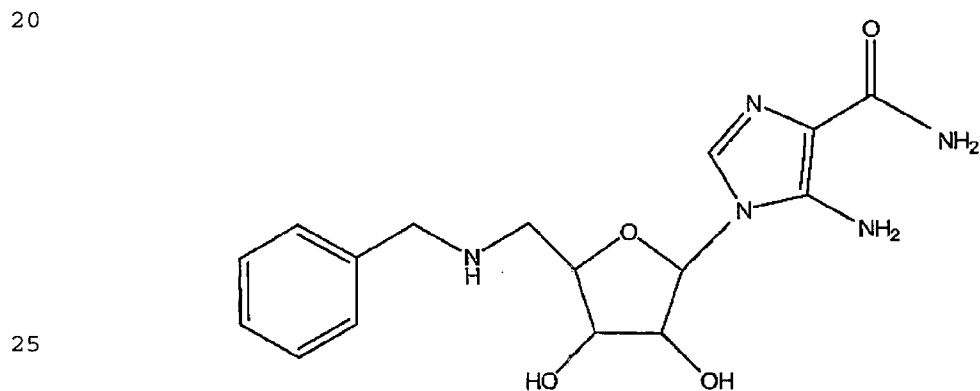
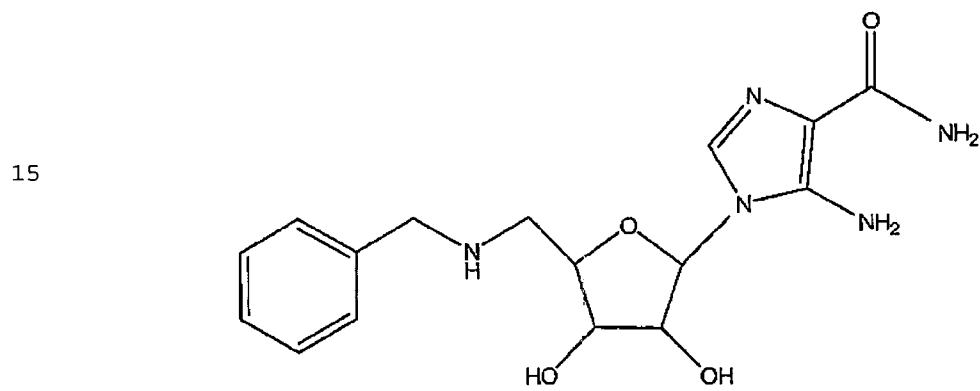
10 R₃ se elige de hidrógeno, halógeno y S-W, en
 donde W es fenilo o fenilo sustituido, o hidrógeno en
 donde T no es oxígeno y U no es amino;

R₄ y R₅ cada uno independientemente se eligen de
 hidrógeno, -COCH₃ y alquil inferior o juntos forman un
 15 carbonato cíclico; y

R₆ se elige de hidroxil, fosfato éster, -OSO₂
 NH₂, sulfhidrilo, halógeno, -OCOCH₃, -SCH₃, -SOCH₃, NH₂ y
 N₃; y sus sales farmacéuticamente aceptables;
 siempre que cuando R₂ es CONH₂, CONH-para-yodo-fenilo
 20 hidrógeno, CN, o CONHCH₂--ψ y R₃ es hidrógeno o halógeno
 y R₄ y R₅ son hidrógeno acilo o juntos forman un carbonato
 cíclico, entonces R₆ no es halógeno fosfato, éster, OH o
 O-acilo en donde el compuesto una profármaco, análogo o
 sal del mismo está a una concentración entre 5 μM a 100
 25 μM.

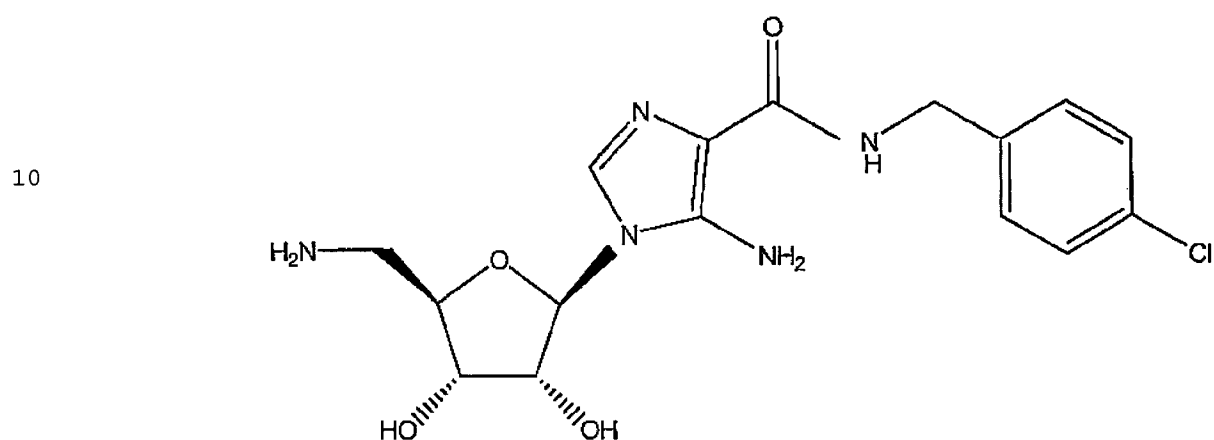
En una modalidad, un equipo para utilizar en administrar un análogo de acadosina a un paciente que se somete a cirugía cardíaca puede comprender una forma liofilizada del compuesto de la fórmula Ia o Ha, una profármaco, análogo o sal del mismo para infusión en el paciente y/o una forma de solución del compuesto de la fórmula Ia o Ha, una profármaco, análogo o sal del mismo para perfusión en el corazón del paciente.

Un análogo AICA ribósido preferido es 5-amino-1-[3-D-(5-bencilamino-5-deoxi-1-ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida, que tiene la estructura química de la fórmula (IIIa)



(IIIa)

Otro análogo AICA ribósido preferido es 5-amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -D- ribofuranosil)imidazol-4-N-[(4-clorofenil)metil] carboximida que tiene una estructura química de la fórmula (IVa)



(IVa)

En una modalidad, la profármaco análogo o sal del compuesto de la fórmula IIIa o la fórmula IVa se proporciona.

En un aspecto, la invención proporciona una solución cardioplégica que comprende el compuesto de la fórmula IIIa o la fórmula IVa en una concentración de entre 5 μ M a aproximadamente 100 μ M. En otro aspecto se proporciona equipo para administrar el compuesto de la fórmula IIIa o fórmula IVa a un paciente que se somete a cirugía cardíaca, que comprende una forma liofilizada del

20

25

compuesto de la fórmula IIIa o la fórmula IVa o una profármaco, análogo o sal del mismo para infusión en el paciente y una solución que comprende el compuesto de la fórmula IIIa o la fórmula IVa, una profármaco, análogo o sal del mismo para perfusión en el corazón del paciente.

En otro aspecto, la invención proporciona un equipo para administrar a un paciente el compuesto de la fórmula IIIa o IVa, o una profármaco, análogo o sal del mismo que comprende un recipiente estéril de compuesto liofilizado de la fórmula IIIa o la fórmula IVa o una profármaco, análogo o sal del mismo.

En otro aspecto, la invención proporciona un método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente con función ventricular izquierda disminuida que tiene una fracción de expulsión que es aproximadamente menor a 30% que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva del compuesto de la fórmula Ia, IIa, IIIa o la fórmula IVa o una profármaco, análogo o sal del mismo. En otro aspecto, la invención proporciona un método para evitar reducir efectos adversos en un paciente al administrar una cantidad efectiva del compuesto de la fórmula Ia, IIa, IIIa o la fórmula IVa, una profármaco, análogo o sal del mismo, en donde el paciente ha tenido uno, dos, tres o más que tres infartos al miocardio pasados. En una modalidad, el infarto al

miocardio más reciente ocurrió dentro de los últimos 24, 36 o 48 meses. En otra modalidad de los dos métodos anteriormente descritos, el paciente es femenino y/o entre las edades de 65 y 95. En otra modalidad, el compuesto de la fórmula Ia, IIa, IIIa o IVa o una profármaco, análogo o sal del mismo se administra a una concentración que proporciona una concentración de plasma en sangre en un paciente de entre aproximadamente 1 $\mu\text{g/ml}$ a aproximadamente 20 $\mu\text{g/ml}$ sobre un periodo de tiempo suficiente. En una modalidad, la concentración de plasma-sangre se mantiene sobre un periodo de aproximadamente 7 horas. En otra modalidad, el compuesto de la fórmula IIIa o la fórmula IVa o una profármaco, análogo o sal del mismo se administra a 0.1 mg/kg/minuto. En otra modalidad, el compuesto de la fórmula IIIa o la fórmula IVa se administra a un paciente sobre aproximadamente 7 horas.

Otro aspecto de la invención proporciona un método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente que se somete a cirugía no vascular que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva del compuesto de la fórmula Ia, IIa, IIIa o fórmula IVa o una profármaco, análogo o sal del mismo. En una modalidad, la invención puede emplearse en una pluralidad de cirugías no vasculares incluyendo pero no limitadas a

cardíaca abdominal, neurológica, ginecológica, ortopédica, urológica, vascular y cirugía relacionada a otolaringología. Más específicamente, la cirugía no vascular incluye recepción de intestino grueso y delgado, apendectomía, laparoscopia, paracentesis, resección trans-uretral de la próstata (TURP= transurethral resection of the prostate), histerectomía, ligadura de trompas, vasectomía, salpingo-oopherotomía, sección cesárea, hemorroidectomía, tonsilectomía, miringodectomía, colocación de tubos de miringotomía, remoción de pólipo(s) del colon y recto, reparación de prolapso rectal, remoción y tratamiento de neoplasmas del intestino, curetaje, toracentesis, toracotomía, rinoplastía, liposucción y semejantes.

Otro aspecto proporciona una formulación farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula IIIa o la fórmula IVa o una profármaco, análogo o sal del mismo y un portador diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable donde la formulación proporciona a un paciente que requiere una concentración de plasma-sangre de un compuesto de la fórmula IIIa o fórmula IVa o una profármaco, análogo o sal del mismo, entre aproximadamente 1 $\mu\text{g/ml}$ a aproximadamente 20 $\mu\text{g/ml}$ por una cantidad suficiente de tiempo. En otra modalidad, la cantidad de tiempo es aproximadamente 7 horas. En otra

modalidad, la formulación farmacéutica está en una forma de micela. En una modalidad, la formulación es lipofílica.

En otro aspecto, la invención proporciona una
5 formulación farmacéutica para utilizar en administrar
acadesina o el compuesto de la fórmula Ia, IIa, IIIa o
IVa o una profármaco, análogo o sal del mismo a un
paciente que lo requiere, en donde la formulación se
adapta para aplicación como un rocío o un aerosol.

10 En otro aspecto, se proporciona un equipo para
utilizar en administrar acadessina, o el compuesto de la
fórmula Ia, IIa, IIIa o IVa, o una profármaco, análogo o
sal del mismo a un paciente que se somete a cirugía
cardíaca que comprende acadessina o el compuesto de la
15 fórmula Ia, IIa, IIIa o IVa o una profármaco, análogo o
sal del mismo en una forma liofilizada para utilizar en
preparar una solución que contiene la acadessina, o el
compuesto de la fórmula Ia, IIa, IIIa o IVa o una
profármaco, análogo o sal del mismo para infusión en un
20 paciente y acadessina o el compuesto de la fórmula Ia,
IIa, IIIa o IVa o una profármaco, análogo o sal del mismo
en una forma de aerosol o de aplicación por rocío para
aplicación directamente al corazón del paciente. En otra
modalidad, la solución para infusión se adapta para
25 aplicación como rocío o como un aerosol.

Preparación de análogos AICA ribósido novedosos preferidos.

Los análogos de imidazos substituidos novedosos de la presente invención pueden sintetizarse por reacciones químicas bien conocidas como se demuestra en los ejemplos siguientes. En general, compuestos de la fórmula (I) pueden prepararse a partir de 4-metil-5-nitro-1H-imidazol por la ruta descrita por Baker et al (Baker D., J. Org. Chem. 47: 3457 (1982)) para preparar ácido 1-bencil-5-nitro-1H-imidazol-4-carboxílico seguido por la etapa adicional de reducir el grupo nitro para dar el grupo amino deseado en R₁. El forma alterna, la síntesis elegante de AICA ribósido reportado por Ferris et al. (Ferris, J. P., J. Org. Chem. 50: 747 (1985), permite una ruta versátil a 5 aminoimidazoles 4-substituidos partiendo con ribósido y diamino maleonitrilo apropiadamente protegidos. Esta ruta también permite la introducción de los grupos deseados R₃ alquilo, hidrocarbilo y arilo por selección del orto éster apropiado en la reacción de ciclización del maleonitrilo al imidazol. Otros sustituyentes R₃ deseados pueden introducirse por los métodos descritos por Miyoshi et al. (Miyoshi T., Chem. Farm. Bull. 24(9): 2089 (1976) para la preparación de 2-bromo and 5-amino-2-thio-1-(2,3-O-isopropylidene-.beta.-D-ribofuranosyl)-4-imidazol

carboxamida o el método de Ivanovics et al. (Ivanovics, G. A. et al., J. Org. Chem. 25: 3631 (1974)) para la preparación de 5 amino imidazol-4 carboxamidas 2 alcoxi 3 amino y 2 hidroxí (como las 2-imidazolonas tautoméricas) substituídas. Compuestos donde el sustituyente R_1 deseado es acilamino pueden prepararse por acilación del compuesto R_1 amino apropiadamente protegido tonel anhídrido acilo deseado seguido por la acilación con amoniaco o metóxido de sodio. Compuestos en donde R_1 es alquilamino o arilamino pueden prepararse por alquilación reductiva del compuesto R_1 amino apropiadamente protegido correspondiente con hidrocarbíl amina deseada como se describe por Sato et al. (Chem. Farm. Bull. 37: 1604 (1989)).

Preparación de los compuestos donde R_6 es aciloxi o hidrocarbiloxicarboxi puede lograrse en forma selectiva por reacción del anhídrido de hidrocarbíl ácido apropiado o hidrocarbíl clorocarbonato con el ribósido 2',3'- O-isopropilideno protegido seguido por remoción del grupo isopropilideno con ácido acuoso diluido como se describe por Miyoshi et al. (ver arriba). Compuestos donde R_6 es hidrocarbiloxi pueden prepararse a partir de las pentosas 5-sustituidas protegidas (Snyder J. R., Carbonhidr. Res. 163: 169 (1987)), utilizando el método de Ferris et al. (ver arriba). Compuestos de acuerdo con

la fórmula (I) en donde R_6 es sulfhidrilo, hidrocarbilitio o hidrocarbिलamino pueden prepararse a partir del 5'-deoxi-5'-yodo-2,3'-isopropilideno imidazol ribósido (Srivastava P. C, J. Med. Chem. 18: 1237 (1975)) por desplazamiento nucleofílico del halógeno con la deseada amina o mercaptano. Compuestos de acuerdo con la fórmula (I), en donde R_6 es alquilamido o arilamido pueden prepararse a partir del 5-amino-5'-deoxiimidazol ribósido correspondiente por acilación con el anhídrido alquil o aril ácido deseado seguido por de-O-acilación con amoníaco o metóxido de sodio. Compuestos de acuerdo con la fórmula (I) en donde R_6 es hidrocarbilo pueden prepararse a partir de 1-(2,3-O-isopropylidene-.beta.-D-ribo-pento-1,5-dialdo-1,4- furanosil)imidazoles con la modificación de reacción Wittig de nucleósidos descritos por Montgomery et al. (J. Het. Chem. 11: 211 (1974)). Compuestos de acuerdo con la formula (I) en donde R_6 es fosfato o un fosfato éster pueden prepararse por el método general de Khwaja et al. (Tetrahedron 27: 6189 (1971)) para nucleósido fosfatos.

Utilidad

Los compuestos análogo AICA ribósido de esta invención serán particularmente útiles en la reducción de lesión durante o prevención de eventos relacionados a isquemia, es decir condiciones que surgen debido a

restricción del suministro de sangre. Esto incluye ataque al corazón, o infarto al miocardio, una situación que sigue de obstrucción de una o más de las arterias coronarias que suministran sangre al músculo cardíaco, o miocardio y que de prolongarse lleva a daño irreversible del tejido.

Compuestos que, como AICA ribósido llevan a niveles locales incrementados de adenosina y de esta manera incrementan el flujo de sangre al miocardio de isquemia, mejorarán este daño de tejido. Un tratamiento actual para ataque al corazón es terapia trombolítica que involucra administrar un agente de disolución de coágulos tal como estreptocinasa o factor activador de plasminógeno de tejido (tPA = tissue plasminogen activador factor). Sin embargo, estas profármacos deben emplearse dentro de unas cuantas horas (1-3) del ataque al corazón y su efectividad disminuye dramáticamente con mayor retardo. Los compuestos de la presente invención que pueden administrarse profilácticamente (es decir antes del evento) para lograr un beneficio, por lo tanto serán claramente útiles.

La angina de pecho es una condición en la que el suministro de sangre es suficiente para satisfacer las necesidades normales del corazón, pero insuficiente cuando aumentan las necesidades del corazón (por ejemplo

durante el ejercicio) y/o cuando el suministro de sangre se vuelve más limitado (por ejemplo durante espasmo de arteria coronaria). Pacientes con angina de pecho o condiciones relacionadas tales como episodios iquémicos transitorios o isquemia silenciosa se beneficiarán
5 similarmente de esta intervención adenosinérgica.

En enfermedad de arteria coronaria avanzada o dolor persistente del pecho en reposo, actualmente se emplea una cantidad de procedimientos clínicos para
10 mejorar el suministro de sangre al corazón. Estos incluyen angioplastía coronaria transluminal percutanea (PTCA = percutaneous transluminal coronary angioplasty) también conocida como angioplastía; aterectomía coronaria direccional transluminal percutánea, aterectomía láser,
15 endoprotesis intravasculares y cirugía de injerto-derivación de arteria coronaria. Los compuestos de esta invención también serán útiles como terapias auxiliares para estas técnicas.

Otro factor que lleva a problemas
20 cardiovasculares es ritmo cardíaco anormal o arritmias, que llevan a deficiencias en la capacidad del corazón para suministrar sangre. La capacidad de estos compuestos como AICA ribósido, para reducir arritmias también les hará útiles para suprimir esta condición.

25 El derrame cerebral y condiciones de trauma de

sistema nervioso central (CNS = central nervous system) que resultan de un suministro de sangre reducido al CNS y de esta manera susceptible a intervención que proporciona niveles incrementados de adenosina al tejido comprometido para facilitar la supervivencia del tejido. Otras indicaciones mejoradas para agentes que efectúan flujo de sangre regional incluyen trasplante de órganos, injerto de aleta de piel en cirugía reconstructiva, enfermedad vascular periférica, endotoxemia, choque hemorrágico, edema pulmonar, lesión pulmonar secundaria a quemaduras (lesión térmica) o septicemia, hipertensión pulmonar, micro embolia, impotencia, glomerulonefritis o glomeruloesclerosis progresiva, arterosclerosis, miocarditis, vasculitis y cardiomiopatías y paro cardiopulmonar.

Ahora es claro que un componente significativo de la neurodegeneración que resulta de derrame cerebral o trauma de CNS se provoca por liberación de aminoácido excitatorio incrementada, que resulta en neuronas que se estimulan a morir. La adenosina se ha reportado que inhibe liberación de aminoácidos citatorio (Burke and Nadler J. Neurochem. 51: 1541 (1988)). Los compuestos de esta invención que aumenta los niveles de adenosina por lo tanto también serán útiles en condiciones en donde están implicados aminoácidos excitatorios tales como corea de

Huntington o enfermedad de Alzheimer (Marangos et al. Trends Neurosci. 10: 65 (1987)) y la enfermedad de Parkinson (Sonsella et al. Science 243: 398 (1989)). Estos estudios junto con resultados de modelos de memoria
5 experimentales (Harris et al. Brain Res. 323: 132 (1984)), sugieren utilidad adicional de esos compuestos en el tratamiento de desórdenes relacionados a los efectos del proceso de envejecimiento en la función del CNS.

10 La adenosina se ha reportado que es un modulador endógeno de inflamación en virtud de sus efectos en función de granulocitos estimulada (Cronstein et al., J. Clin. Invest. 78: 760-770 (1986)) y de función de macrófagos linfocitos y plaquetas. Los compuestos de
15 esta invención por lo tanto serán útiles en condiciones en donde procesos inflamatorios predominan tales como artritis, osteoartritis, enfermedad autoinmune, síndrome de esfuerzo respiratorio de adulto (ARDS = adult respiratory distress syndrome), enfermedad inflamatoria
20 de intestino, enterocolitis necrotizante, enfermedades pulmonar obstructiva crónica (COPD = chronic obstructive pulmonary disease) y otros desórdenes inflamatorios.

La adenosina se ha propuesto que sirve como un anticonvulsivo natural (Lee et al., Brain Res. 321: 1650-
25 1654 (1984); Dunwiddie, Int. Rev. Neurobiol. 27: 63-139

(1985)). Agentes que mejoran los niveles de adenosina por lo tanto serán útiles para el tratamiento de desórdenes de ataque. En un reciente estudio Marangos et al., *Epilepsia* 31: 239-246 (1990) reportó que AICA ribósido
5 fue un inhibidor de ataques en un modelo experimental en animal.

Análogo de AICA ribósido también serán útiles en tratamiento de pacientes que puedan tener niveles de adenosina bajos crónicos o que puedan beneficiarse de
10 adenosina mejorada, tales como aquellos que sufren de autismo, parálisis cerebral, insomnio, ansiedad u otros síntomas neuropsiquiátricos o aquellos que sufren de síndrome irritable intestinal. Sin duda, una cantidad de estudios (Komhuber and Fischer *Neurosci. Lett.* 34: 32
15 (1982); Kim et al. *Eur. Neurol.* 22: 367 (1983)) se han enlazado a los aminoácidos excitatorios con la patofisiología de la esquizofrenia. Los compuestos de esta invención también podrán ser útiles para tratar otras condiciones en donde el propio AICA ribósido tiene
20 efectos benéficos. Por ejemplo, ya que AICA ribósido se ha reportado que tiene acciones anti alérgicas en un modelo de broncoespasmo en conejillo de indias inducido por sensibilización de antígeno (Bergren et al., submitted to *J. of Allergy and Clinical Immunology*
25 (1990)), análogos de AICA ribósido pueden tener un

efecto terapéutico en el tratamiento de asma, fiebre de heno o enfermedades alérgicas.

Los análogos AICA ribósido de la presente invención por lo tanto son útiles en el tratamiento de una variedad de situaciones clínicas en donde el incrementar los niveles extracelulares de adenosina y algunos casos al mismo tiempo, proporcionar depuración de radicales libres y/o actividad antioxidante, son benéficos.

Compuestos de la invención se administran al tejido afectado a velocidades de 0.01 a 3.0 $\mu\text{mole}/\text{min}/\text{kg}$, de preferencia 0.1 a 1.0 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{kg}$. Bajo circunstancias en donde son convenientes más prolongadas infusiones, los compuestos pueden administrarse a menores velocidades, por ejemplo 0.003 a 0.3 $\mu\text{mole}/\text{kg}/\text{min}$, de preferencia 0.01 a 0.1 $\mu\text{mole}/\text{kg}/\text{min}$. Estas velocidades se mantienen fácilmente cuando estos compuestos se administran intravenosamente como se discute a continuación. Cuando se emplean otros métodos (por ejemplo administración oral), el uso de preparaciones de liberación con el tiempo para controlar la velocidad de liberación del ingrediente activo puede preferirse. Estos compuestos administran en una dosis de aproximadamente 0.01 mg/kg/día a aproximadamente 200 mg/kg/día, de preferencia a aproximadamente 0.5 mg/kg/día a aproximadamente 100

mg/kg/día. Dosis preferidas ejemplares para administración oral son 0.3 a 30 mg/kg/día, más preferiblemente 1 a 10 mg/kg/día.

Para propósitos de esta invención, los
5 compuestos de la invención pueden administrarse por una variedad de medios incluyendo en forma oral, parenteral, por rocío de inhalación tópica o rectal en formulaciones que contienen portadores adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables no tóxicos convencionales.
10 El término parenteral como se emplea aquí incluye inyecciones subcutáneas, intravenosas, entre musculares e intraarteriales, con una variedad de técnicas de infusión. Inyección intraarterial o intravenosa como se emplea aquí incluye administración a través de catéteres.
15 Se prefieren para ciertas indicaciones métodos de administración que permiten rápido acceso al tejido u órgano que se trata, tales como inyecciones intravenosas para el tratamiento de infarto al miocardio. Cuando un órgano fuera de un cuerpo se trata, se prefiere perfusión. Composiciones farmacéuticas que contienen el
20 ingrediente activo pueden estar en cualquier forma adecuada para el método de administración pretendido. Cuando se utilizan para uso oral, por ejemplo en tabletas, pastillas medicadas, pastillas, suspensiones
25 acuosas o aceitosas, polvos o gránulos dispersables,

emulsiones, cápsulas duras o suaves, jarabes o elixires, pueden prepararse. Composiciones pretendidas para uso oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método conocido en la especialidad para la fabricación de composiciones farmacéuticas y estas composiciones pueden 5 contener uno o más agentes incluyendo aquellos del grupo que consiste de agentes endulzantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservadores, a fin de proporcionar una preparación agradable al 10 paladar. Tabletas que contienen el ingrediente activo en mezcla con excipiente farmacéuticamente aceptable no tóxico, que son convenientes para fabricación de tabletas, son aceptables. Estos excipientes por ejemplo pueden ser diluyentes inertes tales como carbonato de 15 calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfatos de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación o desintegración, tales como almidón de maíz, o ácido algínico; agentes aglutinantes tales como almidón, gelatina o acacia; y agentes lubricantes, tales como 20 esterato de magnesio, ácido esteárico o talco. Tabletas pueden estar sin revestir o pueden revestirse por técnicas conocidas incluyendo microencapsulación para retardar la desintegración y adsorción en el tracto gastrointestinal y de esta manera proporcionar una acción 25 sostenida sobre un periodo más prolongado. Por ejemplo,

un material de retardo de tiempo tal como gliceril monoesterato o gliceril diesterato solo o con una cera podrá emplearse.

Formulaciones para uso oral también pueden
5 presentarse como cápsulas de gelatina dura en donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte, por ejemplo fosfato de calcio o caolin, o como cápsulas de gelatina suave en donde el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio de aceite, tal como aceite
10 de cacahuete o parafina líquida o aceite de oliva.

Suspensiones a cosas de la invención contienen los materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuas. Estos excipientes incluyendo un agente de suspensión, tal
15 como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma acacia, y agentes es dispersión o humectación tales como fosfatida de origen natural (por ejemplo lecitina), un producto de
20 condensación de un alquileo oxido con un ácido graso (por ejemplo polioxietileno estearato), un producto de condensación de etileno oxido con un alcohol alifático de cadena larga (por ejemplo heptadeaetileneoxicetanol), un
producto de condensación de etilen oxido con un éster
25 parcial derivado de un ácido graso y un anhídrido de

hexitol (por ejemplo polioxietilen sorbitan mono-oleato). La suspensión acuosa también puede contener uno o más conservadores tales como etil de n-propil p-hidroxibenzoato, uno o más agentes colorantes, uno o más
5 agentes saborizantes y uno o más agentes endulzantes, tales como sacarosa o sacarina. Suspensiones en aceite pueden formularse al suspender el ingrediente activo en un aceite vegetal, tal como aceite de araquis, aceite de oliva, aceite de ajonjolí o aceite de coco, o en un
10 aceite mineral tal como parafina líquida. Las suspensiones orales pueden contener uno agente espesante, tal como cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Agentes endulzantes tales como aquellos anteriormente establecidos y agentes saborizantes pueden
15 agregarse para proporcionar una preparación agradable al paladar oral. Estas composiciones pueden conservarse por la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico. Polvos y gránulos dispersables de la invención adecuados para la preparación de una suspensión acuosa por la
20 adición de agua, proporcionan el ingrediente activo en mezcla con una gente de dispersión o humectación, un agente de suspensión y uno o más conservadores. Agentes de dispersión o humectación convenientes y agentes de suspensión se ejemplifican por aquellos descritos
25 anteriormente. Excipientes adicionales, por ejemplo

agentes de endulzantes, saborizantes y colorantes también pueden estar presentes.

Las composiciones farmacéuticas de la invención también pueden estar en la forma de emulsiones de aceite-en-agua. La fase aceitosa puede ser un aceite vegetal, 5 tal como aceite de oliva o aceite de araquís, un aceite mineral, tal como parafina líquida o una mezcla de estos. Agentes emulsificantes convenientes incluyen goma de origen natural, tales como goma acacia y goma tragacanto, 10 fosfatida de origen natural, tales como lecitina de soya, ésteres o éteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol anhídridos, tales como sorbitan monooleato y productos de condensación de estos ésteres parciales con etilen oxido, tales como polioxietileno sorbitan mono- 15 oleato. La emulsión puede también contener agentes endulzantes y saborizantes.

Jarabes y elixires pueden formularse con agentes endulzantes, tales como glicerol, sorbitol o sacarosa. Estas formulaciones también pueden contener un 20 emoliente, un conservador, un saborizante o un agente colorante.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden estar en la forma de una preparación inyectable estéril, tal como una suspensión oleaginosa o acuosa 25 inyectable estéril. Esta suspensión puede formularse de

acuerdo con la técnica conocida utilizando aquellos agentes dispersantes o de humectación convenientes y agentes de suspensión que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril también
5 puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o solvente en forma parenteral aceptable no tóxico, tal como una solución de 1,3-butandiol o preparada como un polvo liofilizado. Entre los vehículos y solventes aceptables que pueden emplearse están agua,
10 solución de Ringer y solución de cloruro de sodio isotónica. Además, aceites fijos estériles pueden emplearse convencionalmente como un solvente o medio de suspensión. Para este propósito cualquier aceite no volátil suave puede emplearse incluyendo mono o
15 diglicéridos sintéticos. Además, ácidos grasos tales como ácido oleico igualmente pueden emplearse en la preparación de inyectables.

La cantidad de ingrediente activo que puede combinarse con el material portador para producir una
20 sola forma de dosis variará dependiendo del anfitrión tratado y el modo de administración particular. Por ejemplo, una formulación de liberación con el tiempo pretendida para administración oral a humanos pueden contener 20 a 200 μ moles de material activo formulado con
25 una cantidad apropiada y conveniente de material portador

que puede variar de aproximadamente 5 a aproximadamente 95% de las composiciones en total. Se prefiere que la composición farmacéutica se prepare que proporciona cantidades fácilmente medibles para administración. Por ejemplo, una solución acuosa pretendida para infusión intravenosa deberá contener de aproximadamente 20 a aproximadamente 50 μ moles de ingrediente activo por mililitro de solución a fin de hacer una infusión de un volumen conveniente a una velocidad de 30 ml/hr.

Se entenderá sin embargo que el nivel de dosis específico para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores incluyendo la actividad del compuesto específico empleado; edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del individuo que se trata; tiempo y ruta de administración; velocidad de excreción; otras profármacos que previamente se han administrado y la severidad de la enfermedad particular que se somete a terapia, así como es bien comprendido por aquellos con destreza en la técnica.

Ejemplos de uso del método de la invención incluyen los siguientes. Se entenderá que estos ejemplos son ejemplares y que el método de la invención no se limita solamente a estos ejemplos. El método puede emplearse siguiendo trombólisis para oclusión coronaria. El compuesto se dará como una preparación inyectable

estéril con agua o cloruro de sodio isotónico como el solvente. La solución puede ser administrada intravenosamente o directamente en la arteria coronaria al tiempo de cateterización de corazón izquierdo o en una arteria carótida. La velocidad de administración puede
5 variar de 0.2 a 1 $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{kg}$ por ejemplo con un volumen de infusión de 30 ml/hr. Duración de la terapia típicamente será de aproximadamente 96 horas.

La angina e infartos al miocardio tempranos
10 pueden tratarse por administración intravenosa utilizando una preparación inyectable estéril que utiliza las velocidades discutidas anteriormente.

Compuestos de la invención también pueden administrarse a pacientes en forma intravenosa durante cirugía de derivación cardíaca o a otros pacientes
15 quirúrgicos en riesgo de infarto al miocardio. El compuesto puede agregarse directamente a la solución que se administra por oxigenación de membrana, o la solución de conservación cardíaca, a las velocidades anteriormente
20 discutidas.

Los órganos pueden conservarse utilizando el método de la invención por perfusión del órgano con una solución que contiene un compuesto de la invención. La dosis administrada variará con la velocidad de perfusión
25 del órgano, como se comprende bien por aquellos con

destreza en la técnica. Este método es particularmente aplicable a órganos y tejidos empleados en transplante de órganos.

DESCRIPCIÓN DE MODALIDADES PREFERIDAS

5 Hemos identificado una cantidad de análogos de AICA ribósido que mejoran la recuperación de función post-isquémica en modelos de isquemia experimentales. Como se ilustra en la Tabla I, el beneficio que resulta de tratamiento con análogos preferidos es al menos igual
10 a AICA ribósido (Compuestos Número 11, 40 (Serie I), y 19 (Serie III)), y en muchos ejemplos logrados a menores concentraciones que AICA ribósido (Compuestos Números 10, 23, 25, 29, 47, 52, 53 (Serie I), 27 (Serie II), 21, y 66 (Serie III)). Compuestos preferidos incluyen profármacos
15 tales como ésteres de ácido carboxílico de 2' y 3' hidroxilos. Por ejemplo, profármacos preferidas de la Serie III son aquellas en donde R_4 y R_5 (Fórmula I) juntas forman un carbonato cíclico. En ensayos funcionales, que específicamente evalúan compuestos por su habilidad para
20 incrementar niveles extracelulares de adenosina, muchos de estos análogos preferidos muestran potencia marcadamente mejorada en comparación con AICA ribósido. Los resultados de evaluar los compuestos por su habilidad para inhibir contracción estimulada en el ileo aislado,
25 una respuesta funcional mediada por adenosina, muestran

que estos compuestos en cada una de las series preferidas fueron más efectivos que AICA ribósido (Tabla II). Además, los análogos de AICA ribósido N-4 sustituidos (Serie I) mejoraron tanto los niveles de adenosina en
5 tejido en corazones isquémicos de rata (Tabla III) e inhibieron utilización de adenosina en células endoteliales coronarias (Tabla IV), a un grado significativamente mayor que AICA ribósido. Una cantidad de compuestos de esta serie preferida (I) también ligan
10 con mayor afinidad a sitio de transporte de adenosina específico NBTI (Tabla V). Estos datos sugieren que el beneficio funcional mejorado de esta serie análogo preferido comparado con AICA ribósido surge al menos en parte de su habilidad para incrementar los niveles
15 extracelulares de adenosina y que estabilidad puede tomarse en cuenta por inhibición del transporte de adenosina. (Ver Tabla V y FIGS. 22 y 23). Los análogos AICA ribósido C-2 sustituidos (Serie II) también parecen aumentar la liberación de adenosina como se ejemplifica
20 por los efectos del Compuesto Número 13 en producción de adenosina en cultivo celular (Tabla VI). Aún más, ciertos de estos compuestos son inhibidores de la enzima metabolizante de adenosina, adenosina cinasa (ver Tabla VII). Los análogos AICA ribósidos sustituidos con 2'-C
25 (Serie IV) modulan en forma profunda la utilización de

adenosina en un modelo de cultivo celular (FIGS. 2A, 2B y 2C). En esta serie preferida (IV), cada uno de los compuestos de prueba también es un inhibidor efectivo de adenosina de aminasa, otra enzima metabolizante de adenosina importante (Tabla VII). De esta manera, estos compuestos incrementan los niveles extracelulares de adenosina en forma más efectiva que AICA ribósido y esto puede explicarse al mejorar la inhibición de adenosina de aminasa. Análogos de AICA ribósido también se han evaluado por sus efectos en función de plaquetas. Como se ilustra en la Tabla IX, ciertos compuestos inhiben la agregación de plaquetas en sangre entera humana. La inhibición de agregación de plaquetas por muchos de los compuestos de prueba se mejora en la presencia de una concentración no inhibitoria de adenosina. Se ha reportado que adenosina es un agente antiplaquetas potente, pero con una corta vida media en la sangre. De acuerdo con esto, la inhibición de agregación de plaquetas observada en la presencia de estos análogos de AICA ribósido puede verse a la actividad regulatoria de adenosina de estos compuestos.

Ciertos análogos AICA ribósido preferidos (Compuesto Número 53 (1-468), compuesto Número 21 (1-227)) también están oralmente biodisponibles en el perro (ver Tabla X). Además, tratamiento con el análogo AICA

ribósido Compuesto Número 53 (1-468), proporciona beneficios funcionales en un modelo canino de angina estable (ver Tabla XI). Además de sus beneficios cardiovasculares, ciertos análogos de AICA ribósido (Compuestos Números 10 (1-186) y 11 (1-226) (Serie I)) también han demostrado efectos protectores en un modelo de guinea de isquemia en el cerebro (FIG. 21).

Para ayudar en comprender la invención, los resultados de una serie de experimentos se presentan que demuestran el beneficio de estos análogos preferidos en modelos de isquemia y además, proporcionan un raciocinio para estos análogos que exhiben potencia mejorada en comparación con AICA ribósido. También se presenta una serie de ejemplos que ejemplifican la síntesis de estos compuestos. Estos ejemplos por supuesto no habrán de considerarse como limitantes específicamente de la invención y estas variaciones de la invención, ni conocidos o desarrollados posteriormente, lo que estará dentro del alcance de una persona con destreza en la técnica, se considera que caen dentro del alcance de la invención, aquí se describe y a continuación reivindica.

Mientras que modalidades preferidas de la presente invención se han ilustrado y descrito aquí, será evidente para aquellos con destreza en la técnica que dichas modalidades se proporcionan sólo a manera de

ejemplo. Numerosas variaciones, cambios y sustituciones ahora se le ocurrirán a aquellos con destreza en la técnica sin apartarse de la invención. Habrá de entenderse que diversas alternativas de las modalidades de la invención aquí descritas pueden emplearse en la práctica de la invención. Se pretende que las siguientes reivindicaciones definan el alcance de la invención y los métodos y estructuras dentro del alcance de estas reivindicaciones y sus equivalentes sean de esta manera cubiertos.

Definiciones

"Administrado" o "administración" se refieren a la introducción del inhibidor de coagulación de la sangre al paciente. La administración se refiere al proporcionar una dosis por una persona, incluyendo por ejemplo un proveedor del cuidado de la salud o el propio paciente.

"Inhibidor de coagulación de la sangre" se refiere a cualquier profármaco, agente o composición farmacéutica que puede bloquear, evitar o inhibir la formación de coágulos de sangre o disuelve o descompone un coágulo de sangre. Un inhibidor de coagulación de la sangre puede ser cualquier inhibidor de coagulación de la sangre que actualmente se conoce por aquellos con destreza en la técnica o que se desarrolla posteriormente. El inhibidor de coagulación de la sangre puede ser de cualquier clase

de profármaco de inhibidores de coagulación de la sangre conocidos por aquellos con destreza en la especialidad incluyendo pero no limitados a agentes antiplaquetas, enzimas trombolíticas, inhibidores de agregación, inhibidores de glicoproteína IIb/IIIa, glicosaminoglicanos, inhibidores de trombina, anticoagulantes, heparina, heparinas de bajo peso molecular, coumarinas, derivados de indandiona, activadores de plasminógeno de tejido y sus combinaciones. Los inhibidores de coagulación de la sangre pueden estar en cualquier forma de dosis farmacéutica y administrarse por cualquier ruta conocida por aquellos con destreza en la técnica.

"Perioperativo" se refiere al periodo de tiempo antes de cirugía (pre operativa), después de cirugía (post operativa), durante cirugía (intra operativa) y/o cualquier combinación como se describe aquí. Por ejemplo, el inhibidor de coagulación de la sangre puede administrarse 48 horas perioperativamente; esto es, el inhibidor de coagulación de la sangre puede administrarse 48 horas antes de cirugía (en forma pre operativa), 48 horas después de cirugía (post operativa), durante cirugía (intra operativa) o cualquier combinación de estos tiempos de administración. La administración durante el periodo perioperativo puede ser cualquier

dosis sencilla o múltiples dosis dentro del periodo de tiempo perioperativo. Se apreciará por aquellos con destreza en la técnica que 'pre-operativo' se refiere al periodo de tiempo antes de cirugía, 'post-operativo' se refiere al periodo de tiempo después de cirugía y 'intra-operativo' se refiere al periodo de tiempo durante cirugía.

"Largo plazo" se refiere al periodo de tiempo después de alta del hospital, y que se extiende por 6 meses o más. Por ejemplo, el inhibidor de coagulación de la sangre puede administrarse al tiempo de alta como una dosis, y después puede continuarse por 6 meses, un año o más después del periodo perioperativo. "Cirugía" o "quirúrgico" se refiere a cualesquiera manipulaciones o métodos manuales u operativos para el tratamiento o prevención de enfermedad, lesión o deformidad. Cirugía incluye métodos o manipulaciones conducidas mientras que el paciente está bajo anestesia, incluyendo anestesia local o general. La cirugía puede realizarse por un doctor cirujano o dentista, en general en un hospital u otra instalación para el cuidado de la salud. Pacientes que se someten a cirugía pueden ser hospitalizados o ambulatorios, por ejemplo cirugía de paciente externo. La cirugía no incluye intervención percutánea (PTI), o angioplastia coronaria transluminal percutánea (PTCA).

"Injerto de puente de arteria coronaria" o "cirugía de revascularización" o "CABG" (CABG = Coronary Artery Bypass Graft) se refiere a cirugía cardíaca en donde uno o más injertos de puente se implantan entre la aorta y el vaso sanguíneo coronario, empleando comúnmente venas safenosas o arterias mamarias internas como injertos. "CABG de injerto de vena" se refiere a cirugía CABG en donde una o varias venas safenosas se emplean para injertar. "CABG de injerto de arteria" se refiere a cirugía CABG en donde una arteria mamaria interna (arterias) se emplea para injertar. Sincronización de Administración

El inhibidor de coagulación de sangre puede administrarse perioperativamente; esto es, antes de cirugía, después de cirugía y/o durante cirugía, o cualquier combinación como se describe aquí. Por ejemplo, si la vida media de la profármaco es prolongada (24 a 48 horas), el inhibidor de coagulación de la sangre puede administrarse como una dosis dentro de 48 (o 24) horas antes de cirugía con dosis repetidas durante o después de cirugía. Profármacos con las vidas medias más cortas pueden proporcionarse antes de cirugía y después administrarse durante o después de cirugía. En algunos pacientes, y en algunas circunstancias, el médico que hace el tratamiento puede decidir suspender el

tratamiento pre operativo y sólo empezar la administración en forma post operativa, por ejemplo 48 horas después de cirugía, después de cerrar la herida para asegurar que no ha ocurrido sangrado en el campo (no
5 haya vasos abiertos) antes de empezar la terapia anticoagulante. Esta administración post operativa inmediata de un inhibidor de coagulación de sangre está dentro del alcance de la invención.

La administración perioperativa incluye el
10 periodo de tiempo antes de cirugía (pre operativo), después de cirugía (post operativo), durante cirugía (intra operativo) y/o cualquier combinación como se describe aquí. Por ejemplo, el inhibidor de coagulación de la sangre puede ser administrado 6 meses, 3 meses, 1
15 mes, 1 semana, 96 horas, 48 horas o menos perioperativamente; esto es, el inhibidor de coagulación de la sangre puede ser administrado 6 meses, 3 meses, 1 mes, 1 semana, 96 horas, 48 horas o menos antes de
20 cirugía, 6 meses, 3 meses, 1 mes, 1 semana, 96 horas, 48 horas o menos después de cirugía o tanto 6 meses, 3 meses, 1 mes, 1 semana, 96 horas, 48 horas o menos antes y después de cirugía. Además, el inhibidor de coagulación de la sangre puede administrarse por ejemplo 36, 24, 12, 8, 6, 4, 2 o 1 hora perioperativamente; esto es, el
25 inhibidor de coagulación de la sangre puede ser

administrado por ejemplo 36, 24, 12, 8, 6, 4, 2 o 1 hora antes de la cirugía y/o 36, 24, 12, 8, 6, 4, 2 o 1 hora después de cirugía y/o durante cirugía. Se puede administrar el inhibidor de coagulación de la sangre por un número igual de horas pre y post cirugía. Por ejemplo se puede administrar el inhibidor de coagulación de la sangre 48 horas antes de cirugía y 48 horas después de cirugía. Se puede administrar el inhibidor de coagulación de la sangre por un número distinto de horas pre y post cirugía. Por ejemplo, se puede administrar el inhibidor de coagulación de la sangre 48 horas antes de cirugía y 24 horas después de cirugía. Se puede administrar el inhibidor de coagulación de la sangre por ejemplo 36 horas antes de cirugía y 36 horas después de cirugía. Se puede administrar el inhibidor de coagulación de la sangre por ejemplo 36 horas antes de cirugía y 12 horas después de cirugía. Se puede administrar el inhibidor de coagulación de la sangre por ejemplo 12 horas antes de cirugía y 12 horas después de cirugía. Se puede administrar el inhibidor de coagulación de la sangre por ejemplo 8 horas antes de cirugía y 8 horas después de cirugía. Se puede administrar el inhibidor de coagulación de la sangre por ejemplo 6 horas antes de cirugía y 8 horas después de cirugía. Se puede administrar el inhibidor de coagulación de la sangre por ejemplo 6 horas

antes de cirugía y 6 horas después de cirugía. Se puede administrar el inhibidor de coagulación de la sangre por ejemplo 8 horas antes de cirugía y 4 horas después de cirugía. Se puede administrar el inhibidor de coagulación de la sangre por ejemplo 4 horas antes de cirugía y 4 horas después de cirugía. Se puede administrar el inhibidor de coagulación de la sangre por ejemplo 2 horas antes de cirugía y 8 horas después de cirugía. Se puede administrar el inhibidor de coagulación de la sangre por ejemplo 4 horas antes de cirugía y 1 hora después de cirugía. Se puede administrar el inhibidor de coagulación de la sangre por ejemplo 24 horas antes de cirugía y durante cirugía. Se puede administrar el inhibidor de coagulación de la sangre por ejemplo durante cirugía y 6 horas después de cirugía.

La administración en el periodo perioperativo puede ser sencilla, una dosis sencilla de una vez o múltiples dosis del inhibidor de coagulación de la sangre. En ciertas modalidades, administración perioperativa puede ser administración continua, ininterrumpida del inhibidor de coagulación de la sangre (por ejemplo un suministro transdérmico o de infusión continua). En otra modalidad, administración perioperativa es o son administraciones sencilla o múltiples discretas dentro del marco de tiempo

perioperativo (por ejemplo una sola dosis suministrada dentro del periodo perioperativo o múltiples dosis suministradas dentro del periodo perioperativo). En una modalidad, el inhibidor de coagulación de la sangre puede
5 administrar ser entre 6 días, 5 días, 4 días, 3 días, 2 días o 1 día perioperativamente. En otra modalidad, el inhibidor de coagulación de la sangre puede administrar ser entre 48 horas, 36 horas, 24 horas, 12 horas, 8 horas, 6 horas o 1 hora perioperativamente. El inhibidor
10 de coagulación de la sangre puede administrarse durante cirugía, por ejemplo en forma contemporánea con el uso o interrupción de derivación puente cardiopulmonar o en forma contemporánea con reperfusión de un área isquémica. La administración puede ser de largo plazo continuo, por
15 ejemplo después de cirugía, después de dado de alta del hospital y por seis meses, un año o más post-operativamente. En ciertas modalidades, cuando el paciente está en terapia de inhibidor de coagulación de sangre crónica, antes de cirugía, el inhibidor de
20 coagulación de la sangre no se interrumpe pre-operativamente, en contraste con la práctica estándar. Perioperativamente, no requiere estar consciente para la administración del inhibidor de coagulación de la sangre. Por ejemplo, el inhibidor de coagulación de la sangre
25 puede administrarse durante cirugía mientras que el

paciente está bajo anestesia. Durante algunas cirugías ambulatorias o de paciente externo, el paciente permanece consciente y en esta situación el inhibidor de coagulación de la sangre puede suministrarse durante cirugía cuando el paciente está consciente.

Esa terapia puede ser continua después de darlo de alta. En el curso de tratamiento de largo plazo, como se describe anteriormente, la formulación y dosis puede continuarse o ajustarse, o el tipo de inhibidor de coagulación de la sangre puede cambiarse a otro inhibidor de coagulación de la sangre.

Cirugía y Complicaciones Quirúrgicas

La presente inversión proporciona métodos para evitar o reducir la morbilidad y mortalidad post-quirúrgicas. En ciertos aspectos los métodos comprenden la administración perioperativa de un inhibidor de coagulación de la sangre para evitar o reducir complicaciones post-quirúrgicas. El inhibidor de coagulación de sangre puede administrarse perioperativamente; esto es, antes de, durante y/o después de cirugía y después de darlo de alta del hospital. De manera significativa, la prevención o reducción de la morbilidad y mortalidad post-quirúrgicas se extienden más allá de la hospitalización.

La cirugía se refiere a cualesquiera métodos o

manipulaciones manuales u operativos para el tratamiento o prevención de enfermedad, lesión o deformidad. La cirugía incluye métodos conducidos mientras que un paciente está bajo anestesia, incluyendo anestesia local o general. La cirugía puede realizarse por un doctor, cirujano o dentista, en general en una instalación de cuidado de la salud u hospital. Pacientes que se someten a cirugía pueden ser hospitalizados o ambulatorios, por ejemplo cirugía de paciente externo. Para propósitos esta invención, la cirugía incluye pero no está limitada a cirugía abdominal (cirugía de las vísceras abdominales), cirugía de laboratorio (por ejemplo cirugía realizada en un órgano que se ha retirado del cuerpo después de lo cual puede ser implantado), cardíaca (cirugía del corazón), cerebral (cirugía en el cerebro), cineplástica (por ejemplo cirugía para crear un túnel a través de un músculo adyacente al muñón de una extremidad amputada, para permitir el uso del músculo en operar una prótesis), cosmética (cirugía para mejorar la apariencia de un paciente por restauración plástica, corrección o remoción de manchas o defectos), dentofacial (por ejemplo cirugía que involucra defectos de la cara y estructura de la boca), neurológica (por ejemplo cirugía que involucra el sistema nervioso periférico o central), oral (por ejemplo cirugía que involucra defectos de la boca, mandíbulas y

estructuras asociadas), ortopédica (por ejemplo cirugía que trata con huesos y estructuras óseas), pélvica (por ejemplo cirugía que involucra la pelvis, predominantemente obstétrica y ginecológica), plástica (por ejemplo cirugía que involucra la restauración, reconstrucción, corrección o mejora en la forma y apariencia de estructuras del cuerpo que están defectuosas, dañadas o deformadas por lesión, enfermedad o crecimiento y desarrollo), rectal (por ejemplo cirugía del recto), urológica (por ejemplo cirugía relacionada al sistema genitourinario, predominantemente en varones), vascular (por ejemplo cirugía de vasos sanguíneos), y cirugía relacionada a otorrinolaringología (por ejemplo cirugía de oídos, nariz, garganta o estructuras relacionadas). La cirugía puede ser conservadora (por ejemplo cirugía para conservar o retirar con riesgo mínimo, órganos, tejidos o extremidades lesionadas o enfermas) o radical (por ejemplo cirugía diseñada para extirpar todas las áreas de zonas con enfermedad extensa local y adyacente de drenado linfático). En ciertas modalidades, la cirugía puede ser cirugía cardíaca, incluyendo al reemplazo de válvula cardíaca, transplante de corazón y corazón-pulmón, e implante de dispositivos de corazón artificial y desfibriladores, reemplazo de válvula o cirugía congénita y de reparación de válvula.

En ciertas modalidades, cuando la cirugía cardíaca es CABG, la cirugía puede ser injerto de puente de arteria coronaria utilizando venas safenosas o arterias mamarias internas, aquí referidas como CABG de injerto de vena o CABG de injerto de arteria, respectivamente. En una modalidad, cuando la cirugía es CABG de injerto de vena, el inhibidor de coagulación de la sangre no es aspirina administrada del tiempo que empieza 12 horas pre-operativamente hasta siete horas post-operativamente. En otra modalidad, cuando la cirugía es CABG de injerto de vena, el inhibidor de coagulación de la sangre no es dipiridamol administrado del tiempo empezando 48 horas pre-operativamente hasta 24 horas post-operativamente. Ver, Goldman, et al, 1988, Circulation 77:1324-32; Chesebro, et al, 1982, NEJM 307:73-8; Chesebro, et al, 1984, NEJM31Q-.209- 14. En otra modalidad, cuando la cirugía es CABG de injerto de vena, el inhibidor de coagulación de la sangre no es ticlopidina o aprotinina. Ver, Drug Facts and Comparisons, updated monthly, September, 2002, Facts and Comparisons, Wolters Kluwer Company, St. Louis, MO.

En ciertas modalidades, cuando la cirugía cardíaca es CABG de injerto de arteria, el inhibidor de coagulación de la sangre no es aprotinina.

La invención puede emplearse en una amplia

variedad de cirugías, incluyendo pero no limitadas a, cardíaca, abdominal, neurológica, ginecológica, ortopédica, urológica, vascular y cirugía relacionada a otolaringología. Más específicamente, cirugía incluye

5 resección de intestino delgado y grueso, apendectomía, laparoscopía, paracentesis, resección transuretral de la próstata (TURP = Transurethral Resection of the Prostate), histerectomía, ligadura de trompas, vasectomía, salpingo-ooforectomía, sección cesárea,

10 hemorroidectomía, tonsilectomía, miringodectomía, colocación de tubos de miringotomía, remoción de uno o varios pólipos del colon y recto, preparación de prolapso rectal, remoción y tratamiento de neoplasmas del intestino, curetaje, toracentesis, toracotomía,

15 rinoplastía, liposucción y semejantes.

Cirugía ambulatoria o de paciente externo incluye cirugía para la cual en general no se requiere hospitalización y/o anestesia general. Estas cirugías incluyen colocación de tubos de miringotomía,

20 hemorroidectomía y semejantes.

La invención puede reducir morbilidad y mortalidad post-quirúrgicas durante el periodo de recuperación de hospitalización post-quirúrgica y después de dar de alta del hospital. La morbilidad y mortalidad

25 post-quirúrgicas pueden ser de cualquier complicación

quirúrgica. Complicaciones de cirugía pueden ser
cardíacas (infarto al miocardio, falla cardíaca
congestiva, disrritmias cardíacas serias, isquemia),
neuroológica (derrame cerebral, encefalopatía, disfunción
5 cognitiva, ataques isquémicos transitorios, ataques),
renal (falla, disfunción o muerte renal),
gastrointestinal (infarto, ileo, isquemia, trombosis
mesentérica o muerte GI), pulmonar (falla, síndrome de
esfuerzo respiratorio, edema), y semejantes.

10 Inhibidor de Coagulación de la Sangre

La presente invención proporciona métodos para
evitar o reducir la morbilidad y mortalidad post-
quirúrgicas. En ciertos aspectos, los métodos comprenden
la administración perioperativa de un inhibidor de
15 coagulación de la sangre para evitar o reducir
complicaciones post-quirúrgicas. El inhibidor de
coagulación de la sangre puede ser administrado
perioperativamente; esto es, antes de, durante y/o
después de cirugía y después de darlo de alta del
20 hospital.

El inhibidor de coagulación de la sangre de la
presente invención puede hacer cualquier profármaco,
agente o composición farmacéutica que evita o inhibe la
coagulación de la sangre. El inhibidor puede actuar al
25 evitar o inhibir formación de coágulos de la sangre o

cualquiera de una variedad de mecanismos incluyendo reducción de factor de coagulación de la sangre o reducir la activación o agregación de plaquetas, o mitigar los efectos de factores de instigación, tales como inflamación o esfuerzo. El inhibidor de coagulación de la sangre también puede actuar al descomponer o disolver un coágulo de sangre después de formación. Será aparente para aquellos con destreza en la técnica que hay varias clases de inhibidor de coagulación de la sangre incluyendo agentes antiplaquetas, enzimas trombolíticas, inhibidores de agregación, inhibidores de glicoproteína 11b/IIIa, glicosaminoglicanos, inhibidores de trombina, anticoagulantes, heparinas, heparinas de bajo peso molecular, coumarinas, derivados indandiona y activadores de plasminógeno de tejido. Ver, The Physicians' Desk Reference (56th ed., 2002) Medical Economics; Mosby 's Drug Consult, 2002, Elsevier Science; Goodman and Gilman's The Pharmacologic Basis of Therapeutics, (9 ed. 1996) Pergamon Press; Drug Facts and Comparisons, updated monthly, September, 2002, Facts and Comparisons, Wolters Kluwer Company, St. Louis, MO.

Para propósitos de esta invención, cualquier profármaco, agente o composición farmacéutica que evita o inhibe la formación de coágulos de sangre o disuelve o descompone un coágulo de sangre es adecuado para utilizar

en la presente invención. Este inhibidor de coagulación de la sangre puede ser por ejemplo cilostazol (PLETAL®, Otsuka), clopidogrel (PLAVIX®, Sanofi), ticlopidina (TICLID®, Syntex), tirofiban (AGGRASTAT®, Merck),
5 eptifibatida (INTEGRILIN®, COR Therapeutics), abciximab (REOPRO®, Eli Lilly y), anagrelida (AGRYLIN®, Roberts), dipyridamol (PERSANTIN®, Boehringer Ingelheim), aspirina (ECOTR®, y otros), dipiridamole/aspirina (AGGRENOX®, Boehringer Ingelheim), dalteparina (FRAGMIN®, Pharmacia),
10 enoxaparina (LOVENOX®, Aventis), tinzaparina (INNOHE®, DuPont), heparina (varios), danaparoides (ORGANON®, Organon), antitrombina III (THROMBATE®, Bayer), lepirudina (REFLUDAN®, Hoechst-Marion Roussel), argatroban (ACOVA®, SmithKlineBeecham), bivalirudina (ANGIOMAX®, Medicines Company), warfarina (COUMADIN®,
15 DuPont) anisidiona (MIRADON®, Schering), alteplase (ACTIVASE®, Genentech), reteplase (RETAVASE®, Boehringer Mannheim), tenecteplase (TNKASE®, Genentech), drotrecogin (XIGRIS®, Eli Lilly), anistreplase (EMINASE®, Roberts),
20 estreptocinasa (STREPTASE®, Astra), urocinasa (ABBOKINASE®, Abbott) y sus combinaciones. Se apreciará por aquellos con destreza en la técnica que los inhibidores de coagulación de la sangre se emplean para el tratamiento de catéteres ocluidos y para el
25 mantenimiento de abertura de dispositivo de acceso

vascular. Heparina, urocinasa, estreptocinasa y alteplase en general se emplean para estos usos. El uso de inhibidores de coagulación de la sangre para el tratamiento de catéteres ocluidos y para mantenimiento de
5 abertura de dispositivos de acceso vascular no está dentro del alcance de la invención.

En ciertas modalidades, en donde el inhibidor de coagulación de la sangre es una heparina de bajo peso molecular, la cirugía de preferencia no es reemplazo de
10 cadera, reemplazo de rodilla o cirugía abdominal. Cuando la profármaco es dalteparina, la dosis de preferencia no es 2500 IU subcutáneamente una vez al día, partiendo una a dos horas preoperativamente y repitiendo una vez diariamente por 5 a 10 posterior a la operación o 5000 IU
15 subcutáneamente la tarde antes de cirugía y repetir una vez diariamente por 5 a 10 días postoperativamente. Cuando la profármaco es enoxaparina, la dosis de preferencia no es 40 mg una vez al día subcutáneamente dado inicialmente de 9 a 15 horas antes de cirugía y
20 continuado por 21 días o 40 mg una vez al día subcutáneamente partiendo 2 horas antes de cirugía y continúa por 7 a 10 días; 12 días si se tolera.

En ciertas modalidades, en donde el inhibidor de coagulación de la sangre es heparina, la cirugía, de
25 preferencia no es abdominotorácica o cirugía cardíaca.

Cuando la profármaco es heparina, las dosis de preferencia no son 5000 unidades subcutáneamente 2 horas antes de cirugía y 5000 unidades cada 8 a 12 horas posteriormente por 7 días o hasta que el paciente sea
5 totalmente ambulatorio. Cuando la profármaco es heparina, las dosis de preferencia no son 150 unidades/kg para pacientes que se someten a perfusión de cuerpo total para cirugía de corazón abierto. Cuando la profármaco es heparina, las dosis de preferencia no son 300 unidades/kg
10 para procedimientos menos de 60 minutos o 400 unidades/kg para procedimientos de más de 60 minutos.

En ciertas modalidades, en donde el inhibidor de coagulación de la sangre es danaparoid, la cirugía no es cirugía de reemplazo de cadera electiva. Cuando la
15 profármaco es danaparoid, la dosis de preferencia no es 750 anit-Xa unidades dos veces al día subcutáneamente empezando 1 a 4 horas preoperativamente y después no antes que 2 horas después de cirugía continuado por 7 a 10 días postoperativamente.

20 En ciertas modalidades, en donde el inhibidor de coagulación de la sangre es warfarina, la cirugía, de preferencia no es cirugía de reemplazo de válvula cardíaca. Cuando la profármaco es warfarina, la dosis de preferencia no es 1 mg diariamente hasta 20 días
25 preoperativamente.

149

En ciertas modalidades, cuando la cirugía cardíaca es CABG de injerto de vena, el inhibidor de coagulación de la sangre no es aspirina administrada dentro de 12 horas preoperativamente hasta siete horas postoperativamente. En ciertas modalidades, cuando la cirugía cardíaca es CABG de injerto de vena, el inhibidor de coagulación de la sangre no es dipiridamol administrado dentro de 48 horas preoperativamente hasta 24 horas postoperativamente. Ver, Goldman, et al, 1988, Circulation 78:1324-32; Chesebro, et al, 1982, NEJM 307:73-8; Chesebro, et al, 1984, NEJM 310:209-14. En ciertas otras modalidades, cuando la cirugía cardíaca es CABG de injerto de vena, el inhibidor de coagulación de la sangre no es ticlopidina o aprotinina. Ver, Drug Facts and Comparisons, updated monthly, September, 2002, Facts and Comparisons, Wolters Kluwer Company, St. Louis, MO.

Aprotinina es indicada para cirugía CABG en uno de dos regímenes de dosis, régimen A o régimen B. El régimen A es administración de 2 millones de KIU (unidades de inhibidor de kallikreina) dosis de carga intravenosa; 2 millones de KIU en la máquina de puente cardiopulmonar (conocida como volumen de cebado de bomba) y 500,000 KIU/hr de tiempo de operación como una infusión intravenosa de mantenimiento continuo. El régimen B es administración de una dosis de carga intravenosa de 1

millón de KIU, 1 millón de KIU en el volumen de cebado de bomba y 250,000 KIU/hora de tiempo de operación como una infusión intravenosa de mantenimiento continuo. Administración de aprotinina empieza después de inducción
5 de anestésico pero antes de estereotomía y se continúa hasta que la cirugía se completa y el paciente sale de la sala de operación. Drug Facts and Comparisons, actualizado mensualmente, septiembre, 2002, Facts and Comparisons, Wolters Kluwer Company, St. Louis, MO. En
10 ciertas modalidades, cuando la cirugía sea vejez de injerto de vena o injerto de arteria CABG, el inhibidor de coagulación de sangre no es aprotinina.

El inhibidor de coagulación de sangre puede ser una combinación de dos o más inhibidores de coagulación
15 de sangre. Combinaciones de inhibidores de coagulación de sangre pueden incluir inhibidores de coagulación de sangre más de una clase de profármaco como se describe aquí. Además, la combinación de inhibidores de coagulación de sangre puede incluir diferentes rutas de
20 administración por cada inhibidor de coagulación de sangre. La combinación de inhibidores de coagulación de sangre puede administrarse simultánea o en forma contemporánea. Además, la combinación de inhibidores de coagulación de sangre puede administrarse por separada.

25 **Dosis, Formulación y Administración**

El inhibidor de coagulación de sangre aquí descrito puede administrarse en un paciente par la reducción de mortalidad y morbilidad después de cirugía por cualquier medio que produzca contacto del inhibidor de coagulación de sangre con el sitio de acción del inhibidor de coagulación de sangre en el cuerpo del paciente. El inhibidor de coagulación de sangre puede ser una composición farmacéutica que puede administrarse por cualquier medio disponible. Será aparente por aquellos con destreza en la técnica que una composición farmacéutica puede administrarse en general con un portador farmacéutico. La composición farmacéutica y/o portador farmacéutico puede seleccionarse en base a la ruta selecta de administración y práctica farmacéutica estándar. Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden adaptarse para administración oral, parenteral o tópica, y pueden estar en forma de dosis unitaria, en una forma bien conocida por aquellos con destreza en la técnica farmacéutica. Administración parenteral incluye, pero no está limitada a, inyección subcutánea, intravenosa, intraperitoneal o intramuscular. Será aparente para una persona con destreza en la técnica que, por ejemplo, formas de dosis oral pueden administrarse por una cantidad de rutas, incluyendo pero no limitadas a rectal y vaginal y por cualquier medio

para suministrar la sustancia al tracto gastrointestinal, tal como por vía de tubo nasogástrico.

La dosis administrada por supuesto variará dependiendo de factores conocidos, tales como: las
5 características farmacodinámicas del inhibidor de coagulación de sangre particular y su modo y ruta de administración; la edad, salud, altura y peso del paciente; el tipo de el o los tratamientos concurrentes; la frecuencia de el o los tratamientos; y su efecto
10 deseado. La dosis del inhibidor de coagulación de sangre no requiere permanecer constante sino que puede ajustarse de acuerdo con parámetros que son bien conocidos por aquellos con destreza en la técnica. Además, la dosis del inhibidor de coagulación de sangre puede ser sub- o
15 supra-terapéutica.

Una sola dosis de ingrediente activo puede estar dentro del rango de dosis normal apropiado para el paciente individual. Por ejemplo, la aspirina puede emplearse oralmente a 40 mg-160 mg/día. Dipyridamol
20 puede emplearse oralmente a 75 mg- 100 mg cuatro veces al día. Aspirina y dipyridamol pueden suministrarse en combinación como un solo producto comercialmente disponible a una dosis de 25 mg aspirina/200 mg dipyridamol (AGGRENOL[®]) o las composiciones pueden
25 suministrarse juntas contemporáneamente como

composiciones individuales en los rangos de dosis aquí descritos. Heparina puede emplearse subcutáneamente con una dosis inicial de 10,00-20,000 Unidades (que puede ser precedida por una dosis de carga intravenosa de 5,000 unidades), seguido por 8,000-10,000 unidades cada 8 horas o 15,000 a 20,000 unidades cada 12 horas, ajustando para tiempo de tromboplastina parcial (PTT = partial thromboplastin time) a aproximadamente 1.5 a 2 veces normal. Warfarina puede emplearse oral o en forma parenteral a 0.5- 30 mg/día. Cilostazol puede emplearse oral a 50-100 mg dos veces al día. Clopidogrel puede emplearse oralmente a 75 mg una vez por día, con o sin una dosis de carga de 300 mg. Ticlopidina puede emplearse oralmente a 250 mg dos veces al día. Tirofiban puede emplearse en forma parenteral a 0.4 mcg/kg/min durante 30 minutos, después continuarse a 0.1 mcg/kg/min. Eptifibatida puede emplearse en forma parenteral a 180 mcg/kg como un bolo intravenoso, seguido por 2 mcg/kg/min de infusión continua con un segundo bolo, dado 10 minutos después del bolo intravenoso inicial. La segunda dosis de bola parenteral puede ser 180 mcg/kg. Abciximab puede emplearse en forma parenteral a 0.25 mg/kg por infusión sobre 10 a 60 minutos como un bolo intravenoso, seguido por infusión continua de 0.125 mcg/kg/min, a un máximo de 10 mcg/min, por 12 horas. Anagrelida puede emplearse

oralmente a 0.5 mg cuatro veces al día a 1 mg dos veces
 diariamente titulada hasta un máximo de 10 mg/día.
 Dalteparin puede emplearse subcutáneamente a 2500-5000 IU
 una a dos veces diariamente. Enoxaparin puede emplearse
 5 subcutáneamente a 1 mg/kg una a dos veces diariamente.
 Tinzaparin puede emplearse subcutáneamente a 175 anti-Xa
 IU/kg una vez al día. Danaparoid puede emplearse
 subcutáneamente a 750 anti-Xa unidades dos veces al día.
 Antitrombina III puede emplearse en forma parenteral en
 10 una dosis con base en el nivel de antitrombina en plasma
 preterapia III (AT). La dosis puede calcularse por:

$$\text{Unidades requeridas (IU)} = \frac{[\text{línea base deseada (AT)}] \times \text{peso (kg)}}{1.4}$$

15 o en forma alterna

$$\begin{aligned} \text{Número de factor IX requerido (IU)} = \\ \text{peso corporal (kg)} \times \text{Incremento en factor IX deseado (\% o} \\ \text{IU/dL)} \times \text{Recíproca de recuperación observada (IU/kg por} \\ \text{IU/dL)} \end{aligned}$$

20 (Ver, Drug Facts and Comparisons, updated
 monthly, September, 2002, Facts and Comparisons, Wolters
 Kluwer Company, St. Louis, MO).

Lepirudina puede suministrarse en forma
 parenteral en una dosis de bolo de 0.4 mg/kg, empuje
 25 intravenosos sobre 15-20 segundos, seguido por 0.15 mg/kg

de infusión intravenosa continua. Argatroban puede suministrarse a 2 mcg/kg/min como una infusión continua. Bivalirudina puede suministrarse a 1 mg/kg de bolo intravenoso seguido por una infusión intravenosa de 4 horas a 2.5 mg/kg/hr. Anisidiona puede utilizarse oralmente a 25-300 mg/día. Alteplase puede suministrarse intravenosamente en pacientes que pesan más de 67 kg, a una dosis de 100 mg administrada como un bolo intravenoso de 15 mg, seguido por 50 mg de infusión sobre los siguientes 30 minutos y después 35 mg de infusión sobre los siguientes 60 minutos. En pacientes que pesan menos de 67 kg, alteplase puede administrarse intravenosamente como una dosis total de 100 mg; un bolo intravenoso de 15 mg seguido por 0.75 mg/kg de infusión sobre los siguientes 30 minutos sin exceder 50 mg y después 0.5 mg/kg sobre los siguientes 60 minutos, sin exceder 35 mg. Reteplase puede utilizarse en forma parenteral como una inyección de bolo intravenoso de 10 Unidades durante 2 minutos, seguido 30 minutos después por una segunda inyección de bolo intravenoso de 10 Unidades durante 2 minutos. Tenecteplase puede utilizarse en forma parenteral a una dosis de 30-50 mg, con base en el peso del paciente y administrarse como un solo bolo durante 5 segundos. Drotrecogin puede utilizarse en forma parenteral a 24 mcg/kg/hr para una duración de infusión

total de 96 horas. Anistreplase puede utilizarse en forma parenteral a 30 Unidades administradas intravenosas durante 2 a 5 minutos. Estreptocinasa puede utilizarse en forma parenteral a una dosis de 250,000 Unidades por infusión durante 30 minutos. Además, estreptocinasa puede emplearse intravenosamente a un bolo de 20,000 IU seguido por una dosis de 2,000 IU/minuto por 60 minutos. Urocinasa puede emplearse en forma parenteral a una dosis de 4400 Unidades/kg durante 10 minutos, seguido por infusión continua de 4400 Unidades/kg/hr a una velocidad de 15 ml/hr por 12 horas.

El ingrediente activo de un inhibidor de coagulación de la sangre puede administrarse oralmente en forma de dosis sólidas o semi-sólidas, tales como cápsulas de gelatina dura o suave, tabletas, o polvos, o en forma de dosis líquida, tales como elixires, jarabes o suspensiones. También puede administrarse en forma parenteral, en forma de dosis líquidas estériles. Otras formas de dosis son potencialmente posibles tales como parches o ungüentos o administración transdérmica.

Las formas de dosis parenteral pueden por ejemplo, ser preparaciones inyectables que incluyen suspensiones, soluciones o emulsiones estériles del ingrediente activo en vehículos acuosos o aceitosos. Las composiciones también pueden comprender agentes de

formulación tales como agentes de suspensión, estabilización y/o dispersión. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosis unitaria, por ejemplo en ampolletas o en recipientes de múltiples
5 dosis y pueden comprender conservadores agregados.

Una formulación inyectable puede estar en forma de polvo para reconstitución con un vehículo conveniente, incluyendo pero no limitado a agua libre de pirógeno estéril, amortiguador, solución de dextrosa, etc., antes
10 de uso.

Para administración durante cirugía, el ingrediente activo puede administrarse directamente en la máquina de Puente cardiopulmonar, directamente en el pericardio o directamente en los vasos expuestos en el
15 campo quirúrgico.

Para suministro prolongado, el ingrediente activo puede formularse como una preparación de depósito, para administración por implante; por ejemplo inyección subcutánea, intradérmica, o intramuscular. De esta
20 manera por ejemplo, el ingrediente activo puede formularse con materiales poliméricos o hidrofóbicos convenientes (por ejemplo como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o derivados escasamente solubles.

25 En forma alterna, los sistemas de suministro

transdérmicos fabricados como un disco o parche adhesivo que libera lentamente el ingrediente activo para absorción percutánea pueden emplearse. Para este objetivo, mejoradores de permeación pueden emplearse para
5 facilitar la penetración transdérmica del inhibidor de coagulación de la sangre.

Para administración oral, las formulaciones farmacéuticas o el inhibidor de coagulación de la sangre pueden tomar la forma por ejemplo de tabletas o cápsulas
10 preparadas por medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como agentes aglutinantes (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropil metilcelulosa); rellenos (por ejemplo, lactosa, celulosa
15 microcristalina o hidrógeno fosfato de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); desintegrantes (por ejemplo, almidón de papa o almidón glicolato de sodio); o agentes humectantes (por ejemplo, lauril sulfato de sodio). Las tabletas pueden
20 revestirse por métodos bien conocidos en la especialidad.

Preparaciones líquidas para administración oral pueden tomar la forma por ejemplo de soluciones, jarabes o suspensiones, o pueden presentarse como un producto seco para constitución con agua u otro vehículo
25 conveniente antes de uso. Estas preparaciones líquidas

pueden elaborarse por medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas); agentes
5 emulsificantes (por ejemplo, lecitina o acacia); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendras, ésteres aceitosos, etil alcohol o aceites vegetales fraccionados); y conservadores (por ejemplo, metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico).

10 Las preparaciones también pueden comprender sales amortiguadoras, agentes saborizantes, colorantes y endulzantes como sea apropiado. Preparaciones para administración oral pueden ser formuladas convenientemente para dar liberación controlada del
15 compuesto activo.

Para administración bucal, las composiciones pueden tomar la forma de tabletas o pastillas formuladas de manera convencional. Para rutas de administración recta y vaginal, el ingrediente activo puede formularse
20 como soluciones (para enemas de retención) supositorios o ungüentos.

Para administración por inhalación, el ingrediente activo puede suministrarse convenientemente en la forma de una presentación de rocío en aerosol a
25 partir de paquetes a presión o un nebulizador, con el uso

de un propulsor conveniente, por ejemplo diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas conveniente. En el caso de un aerosol a presión, la
5 unidad de dosis puede determinarse al proporcionar una válvula para suministrar una cantidad dosificada. Cápsulas y cartuchos por ejemplo, gelatina para uso en un inhalador o insuflador pueden formularse que comprende una mezcla en polvo del compuesto y una base de polvo
10 conveniente tal como lactosa o almidón.

Las composiciones pueden si se desea presentarse en un empaque o dispositivo surtidor que puede comprender una o más formas de dosis unitarias que comprenden el ingrediente activo. El empaque puede por
15 ejemplo comprender hoja delgada de metal o plástico tal como un empaque blíster. El empaque o dispositivo surtidor puede acompañarse por instrucciones para administración.

El inhibidor de coagulación de la sangre puede
20 administrarse por cualquier ruta conveniente conocida por aquellos con destreza en la técnica que asegure biodisponibilidad en la circulación. La administración puede lograrse por rutas de administración parenteral, incluyendo pero no limitado a, inyecciones intravenosas
25 (IV), intramuscular (IM), intradérmica, subcutánea (SC),

e intraperitoneal (BP). En ciertas modalidades, la administración es mediante una máquina de puente, aparato de perfusión, infiltrador o catéter. En ciertas modalidades, el inhibidor de coagulación de la sangre se le administra por inyección, mediante una bomba implantable subcutáneamente o por una preparación de depósito, en dosis que logran un efecto terapéutico. Formas de dosis convenientes además se describen en Remington 's Pharmaceutical Sciences, 1990, 17th ed., Mack Publishing Company, Easton, PA, un libro de texto de referencia estándar en este campo, que se incorpora aquí por referencia en su totalidad.

La administración puede lograrse a través de una variedad de diferentes regimenes de tratamiento. Por ejemplo, varias dosis orales pueden administrarse periódicamente durante un solo día, con el total acumulativo de inhibidor de coagulación de la sangre que no alcanza la dosis tóxica diaria. En forma alterna, el inhibidor de coagulación de la sangre puede administrarse diariamente empezando por ejemplo 48 horas antes de cirugía y continuando diariamente, por ejemplo hasta por 48 horas después de cirugía.

Inyecciones intravenosas pueden administrarse periódicamente durante un solo día, con el volumen total acumulativo de las inyecciones que no alcanza la dosis

diaria tóxica. En forma alterna, una inyección intravenosa puede administrarse, por ejemplo diariamente empezando por ejemplo 48 horas antes de cirugía y continuando diariamente por ejemplo hasta 48 horas después de cirugía. La dosis del inhibidor de coagulación de la sangre puede variar. Por ejemplo, una dosis en escala puede administrarse. Dependiendo de las necesidades del paciente, la administración puede ser por lenta infusión con una duración de más de una hora, por rápida infusión de una hora o menos, o por inyección de un solo bolo.

Otras rutas de administración pueden emplearse. Por ejemplo, absorción a través del tracto gastrointestinal puede lograrse por rutas orales de administración (incluyendo pero no limitadas a ingestión, por tubo nasogástrico, rutas bucal y sublingual). En forma alterna, administración mediante tejido mucosal tal como modos de administración vaginal y rectal puede emplearse. Todavía en otra alternativa, las formulaciones de la invención pueden administrarse en forma transcutánea (por ejemplo, transdérmica), o por inhalación. Se apreciará que la ruta preferida puede variar con la condición y edad del receptor.

La dosis actual del inhibidor de coagulación de la sangre variará con la ruta de administración. El

inhibidor de coagulación de la sangre general se utilizara en una cantidad efectiva para lograr el propósito pretendido. Por supuesto, habrá de entenderse que la cantidad empleada dependerá de la aplicación particular.

La cantidad efectiva, por ejemplo puede variar dependiendo del tipo cirugía, condición del paciente, edad del paciente, peso del paciente, historia médica del paciente, la forma de administración y el juicio del médico que receta. Se apreciará por una persona con destreza la técnica que el grado de anti coagulación de la sangre puede supervisarse por valores de laboratorios tales como tiempo de protombrina (PT) y tiempo de trombina parcial (PTT). La determinación en la cantidad efectiva está bien dentro de las capacidades de aquellos con destreza la técnica, especialmente a la luz de la descripción detallada que aquí se proporciona.

La administración de un inhibidor de coagulación de la sangre puede ser repetida intermitentemente. El inhibidor de coagulación de la sangre puede administrar ser sólo o en combinación con otras profármacos, por ejemplo otras profármacos prequirúrgicas tales como antibióticos o anestésicos.

Combinación de inhibidor de coagulación de la sangre y
acadesina.

En otro respeto de la invención, un método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente que se somete a cirugía se proporciona, en donde acadesina o profármaco, análogo o su sal, primero se administra y después se administra un inhibidor de coagulación en la sangre. En una modalidad, el inhibidor de coagulación de la sangre se administra durante la administración de la acadesina, o una profármaco, análogo, o sal de la misma. En una modalidad, la acadesina, o su profármaco, análogo o sal, se administra a una dosis total de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg. En otro aspecto proporciona un método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente que se somete a cirugía no vascular, en donde acadesina o profármaco, análogo o su sal, se administra y después se administra un inhibidor de coagulación en la sangre. La invención puede emplearse en una amplia variedad de cirugías no vasculares, incluyendo pero no limitadas a cardíaca, abdominal, neurológica, ginecológica, ortopédica, urológica, vascular y cirugía relacionada a otolaringología. Más específicamente, cirugía no vascular incluye resección de intestino delgado y grueso, apendectomía, laparoscopia, paracentesis, resección transuretral de la próstata (TURP), histerectomía, ligadura de trompas, vasectomía, salpingo-ooforectomía,

sección cesárea, hemorroidectomía, tonsilectomía, miringodectomía, colocación de tubos de miringotomía, remoción de uno o varios pólipos de colon y recto, reparación de prolapso rectal, remoción y tratamiento de neoplasmas del intestino, curetaje, toracentesis, toracotomía, rinoplastía, liposucción y semejantes.

En una modalidad, el inhibidor de coagulación de la sangre es aspirina. En una modalidad, el paciente que se somete a cirugía o cirugía no vascular ha tenido un pasado infarto al miocardio. En otra modalidad, el infarto al miocardio pasado ocurrió dentro de los últimos 24, 36 o 48 meses antes de cirugía.

Otro aspecto de la invención proporciona un método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente que se somete a cirugía CABG al administrar primero acadesina o su profármaco, análogo o su sal, y luego administrar un inhibidor de coagulación en la sangre. En una modalidad, la administración del inhibidor de coagulación en la sangre ocurre durante la administración de la acadesina, o su profármaco, análogo, o sal. En otra modalidad, la acadesina, o su profármaco, análogo o sal, se administra a una dosis total de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 200 mg/kg. Otra modalidad proporciona administración de acadesina, o su profármaco, análogo o sal, a 0.1 mg/kg/minuto. Otra

modalidad proporciona administración de acadesina, o su profármaco, análogo o sal, sobre un período de aproximadamente siete horas. Otra modalidad proporcionada administración de aspirina a una dosis de aproximadamente
5 400 mg a aproximadamente 5 g. Otra modalidad proporciona administración de aspirina al menos una vez dentro de 48 horas después de cirugía.

Otro aspecto de la invención proporciona una formulación farmacéutica que comprende acadesina, o su
10 profármaco, análogo, o sal, aspirina y un portador diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, en donde la formulación proporciona un paciente con una concentración de plasma en la sangre entre aproximadamente $1\mu\text{g/ml}$ a aproximadamente $20\mu\text{g/ml}$ sobre
15 un período de aproximadamente siete horas y aspira a una dosis de aproximadamente 40 mg a aproximadamente 5g. En otra modalidad, la invención proporciona un método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente que se somete a cirugía al administrar la formulación
20 farmacéutica anterior dentro de 48 horas de la cirugía. En otra modalidad, la cirugía es cirugía CABG.

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos describen aspectos específicos de la invención para ilustrar la invención y
25 proporciona una descripción de los métodos composiciones

y formulaciones de la invención. Los ejemplos no habrán de considerarse como limitantes de la invención ya que el ejemplos simplemente proporciona metodología específica útil para comprender y practicar la invención.

5

EJEMPLO I

Mejora de AICA ribósido de liberación de adenosina por linfoblastos.

Respecto a la liberación in vitro mejorada de adenosina por el método reivindicado, se utiliza una
10 línea celular de linfoblastos esplénicos humanos (WI-L2) para demostrar el efecto de AICA ribósido en desprendimiento o liberación de adenosina. La historia y propiedades de la línea celular se han descrito por Hershfield et al. in Science, Vol. 197, p. 1284, 1977. La
15 línea celular se mantiene en medio de cultivo celular RPMI 1640 suplementado con 20% de suero de ternera fetal y glutamina 2mM y concentraciones variantes de AICA ribósido, y se desarrolla por 48 horas en una atmósfera de dióxido de carbono al 5% en aire. Suero bovino fetal
20 contiene purinas y enzimas que metabolismo purina, sin embargo y para establecer el efecto de AICA ribósido durante exposición de 2-deoxiglucosa, las células WI-L2 se incubaron en medio RPMI 1640 suplementado con suero bovino fetal dializador, termo inactivado al 10%,
25 glutamina 2mM y deoxicoformicina 1 μ M.

El catabolismo de los almacenes de ATP celular se estimula al agregar ya sea 2-deoxiglucosa o un ionóforo de calcio. En diversos tiempos, la cantidad adenosina liberada por las células en el sobrenadante, o la cantidad de nucleótido se quedan en las células, se determina al mezclar 30 μ l de ácido perclórico 4.4N enfriado con 300 μ l de sobrenadantes, o al agregar 300 μ l de ácido perclórico 0.4N a las células recolectadas como precipitados o granulados, y centrifugar las mezclas a 500^g por 10 minutos a 4°C. Cada sobrenadante resultante se neutraliza con 660 μ l de una solución que contiene 2.4 gramos de tri-n-octylamine (Alamine 336) (General Mills) en 12.5 ml de 1,1,2-trichloro-1,2,2-trifluoroethane (Freon-113) solvente como se describe por Kliym in Clinical Chemistry, Vol. 21, p. 1245, 1975. Después de centrifugación a 1500XG por tres minutos a 4°C, la fase acuosa se retira y congela a -20°C que se ensayan por adenosina, inosina o por nucleótidos. La adenosina se evaluó isocráticamente en una columna de fase inversa C-18 microBondapak equilibrada con fosfato de potasio 4 milimolar (pH 3.4): acetonitrilo 60% en agua (95:5 v/v) como amortiguador. La adenosina eluye a 8-10 minutos y su identidad se confirma por su sensibilidad a adenosina diaminaza y por tratamiento con normas de adenosina. Las muestras extraídas del precipitado celular se analizaron

por nucleótidos por cromatografía de líquidos con alta presión en una columna Whatman Partisil-10 (SAX) equilibrada con fosfato de potasio 10 milimolar, pH 3.78, y eluye con gradiente lineal a un fosfato de potasio 0.25 molar, KCl 0.5 molar, pH 3.45. Se realizó supervisión continua por absorbancia a 254 y 280 nm. Se cuantificaron picos por comparación con análisis de cromatografía de líquido con alta presión de normas convenientes.

La Figura 2 muestra que el pretratamiento de AICA ribósido por 48 horas sobre el rango de 100-500 micromolar, mejora la liberación de adenosina de linfoblastos. Aproximadamente 1.4 nanomolar de adenosina/ 10^6 células WI-L2 se excretan sin la presencia de profármacos de la invención y este numero se aumenta aproximadamente 2.3 nanomolar a AICA ribósido 500 micromolar. Cuando las células se pre incuban con AICA ribósido por 18 horas antes de exposición con 2-deoxiglucosa, ocurre liberación de adenosina mejorada como se ve en la Figura 7. pre incubación de tres horas e incubación de cuatro horas (durante tratamiento con 2-deoxiglucosa) ya sea con AICA ribósido (FIGURA 8) o ribivirina (FIGURA 9) también resulta en liberación de adenosina incrementada. Las células se desarrollaron a aproximadamente 0.5×10^6 células/ml (fase mid-log) en la

Figura 2 a aproximadamente 1.0×10^6 células/ml (fase estacionaria temprana) en las FIGURAS 7-9.

EJEMPLO II

5 Efecto In vitro de AICA ribósido en liberación de adenosina en células de neuroblastoma.

Haya enfermedades neuromusculares tales como parálisis cerebral, autismo, esquizofrenia, e insomnio en donde puede ser benéfica la liberación de adenosina incrementada. Líneas celulares de neuroblastoma se desarrollaron en medio y bajo condiciones descritas en el
10 EJEMPLO I. El medio se suplementa con AICA ribósido 0 o 50 μ M. Para inducir catabolismo ATP, el medio de crecimiento se reemplaza por medio que contiene cantidades micro molares del ionóforo de calcio A23187 y
15 deoxicoformicina 1.0μ M. Bajo estas condiciones, se mostró que las células tratadas secretan al menos dos veces más de adenosina que las células de control. Células deficientes en hipoxantina fosforribosil transferasa secretar dos veces menos adenosina que
20 células con encima normal y pueden corregirse por pretratamiento con AICA ribósido o ribavirina. Los resultados se ilustran en la Tabla I siguiente.

TABLA 1

<u>EFFECTO DE AICA RIBÓSIDO EN EXPRESIÓN DE ADENOSINA POR</u>	
---	--

CÉLULAS DE NEUROBLASTOMA ESTIMULADO HPRT ⁻ Y HPRT ⁺			
Línea celular	Concentración de Ionóforo (μg/ml)	Concentración de AICA RIBOSIDO (μM)	Concentración de Adenosina (μM)
HPRT ⁺	0	0	<0.01
HPRT ⁺	0	50	<0.01
HPRT ⁻	0	0	<0.01
HPRT ⁻	0	50	<0.01
HPRT ⁺	10	0	0.329
HPRT ⁺	10	50	0.698
HPRT ⁻	10	0	0.124
HPRT ⁻	10	50	0.513

EJEMPLO III

Efecto in vivo de AICA ribósido en niveles de adenosina y flujo de sangre incrementado en perros.

5 Se realizaron experimentos en perros para probar niveles de los incrementados provocados por tratamiento con AICA ribósido, y el aumento con comitante en flujo de sangre resultante de ahí.

10 Las FIGURAS 3 y 4 muestran los resultados de una segunda serie de experimentos llevados a cabo para demostrar los efectos de AICA ribósido en niveles adenosina en sangre y para correlacionar el aumento en adenosina con flujo de sangre incrementado. Trece perros

callejeros fueron anestesiados con fenobarbital. La vena coronaria anterior se canulo y se recolectó una muestra de sangre en ácido perclórico 2N. Salino o AICA ribósido 100mM en salino se elige aleatoriamente para infusión en la vena femoral por 45 minutos antes de oclusión de arteria coronaria a una velocidad de 1ml/min. Sangre venosa coronaria se recolecta y ensaya por adenosina en una forma similar al ensayo descrito en el EJEMPLO I a 5 minutos antes de oclusión y después 1, 10, 20, 35 y 50 minutos de oclusión de la arteria coronaria descendente anterior izquierda, así como 1 minuto después de reperfusión. Flujo de sangre de miocardio regional se mide dentro del 15 μ m esferas radio etiquetadas infundido en el atrio izquierdo en 5 y 60 minutos durante el periodo isquémico, como se describe por Heymann et al. in Prog. CV. Dis. 20; 55 (1977). El electrocardiograma y la presión arterial se supervisaron a través de el período de isquemia. Seis perros tratados con AICA ribósido y cinco con Salinas sobrevivieron el procedimiento. Dos de los animales tratados con salino supervivientes fibrilaron. La concentración de AICA ribósido en perros tratados con AICA ribósido directamente después oclusión fue de 57.4 $\pm$ 40.2 μ M. El rango fue de 4.4 a 100 μ M.

La Figura 3 muestra que niveles de adenosina

en áreas isquémica condenado de sangre se incrementan dramáticamente en perros con perfusión de AICA ribósido. Antes de isquémica, ninguno de los perros tuvo adenosina venosa medible ($<0.01 \mu\text{M}$) antes y durante la infusión con la AICA ribósido o salino. Los animales tratados con salino tuvieron un nivel de adenosina pico a 10 minutos después de oclusión ($0.22 \pm 0.08 \mu\text{M}$) que cayó a un nivel indetectable por 60 minutos. En contraste, los animales tratados con AICA ribósido tuvieron un nivel de adenosina pico a 1 minuto de isquemia ($1.79 \pm 0.35 \mu\text{M}$), que permanece elevado a 60 minutos (0.1847 ± 0.15). La reperfusión resultó en que no hubo lavado de adenosina detectable o arrastre de adenosina detectable en animales tratados con salino pero un aumento significativo en animales tratados con AICA ribósido. La sangre obtenida del atrio derecho (muestreados de sangre sistémica) no tuvo adenosina detectables en perros tratados con salino y AICA ribósido.

La Figura 4 muestra que el flujo de sangre del miocardio regional al miocardio isquémico fue significativamente mayor en AICA ribósido que en animales tratados con salino. Un grado similar de diferencia en flujos se ve en endocardio y epicardio, y no hubo cambios entre 5 y 60 minutos de isquémica. AICA ribósido no altera el flujo al miocardio normal, ya que los gastos de

flujo de tejido no isquémico son notablemente similares entre dos grupos. La presión arterial sistémica y ritmo cardíaco a 5 y 60 minutos no mostró diferencias significantes entre los dos grupos de perros.

5 El contenido de gas en sangre arterial y conteo de granulositos venosos istémicos no fueron significativamente diferentes entre los dos grupos. De esta manera, se considera que AICA ribósido mejora el flujo coronario colateral al miocardio isquémico, como se
10 indico anteriormente, aumentando la liberación de adenosina localizada y de esta manera los niveles de vaso dilatación en la región isquémica y/o inhibiendo producción de radicales libres de granulositos y subsecuente daño capilar y/o taponamiento.

15 EJEMPLO IV

Efecto de tratamiento de AICA ribósido en niveles de inosina en perros.

Que el incremento en los niveles de adenosina se debe, al menos en parte a una reducción de la cantidad
20 de ATP que se convierte en inosina se mostró por análisis de sangre venosa de perros en el Ejemplo III para niveles de inosina. La Figura 5 muestra más de una disminución de dos veces en niveles de inosina sobre el periodo de ensayo de 60 minutos en perros tratados con AICA
25 ribósido. Estos datos indican que los compuestos de la

invención aumentan la liberación de adenosina al redirigir el catabolismo de ATP del producto final normalmente más predominante, inosina, en adenosina.

EJEMPLO V

5 Efecto de tratamiento con AICA ribósido en tamaño de infarto al miocardio

El efecto del tratamiento con AICA ribósido en tamaño de infarto al miocardio se determina en ratas que se les suministra un bolo ya sea de AICA ribósido en
10 salino o salino solo, y después inducir flujo de sangre restringido al ligar la arteria coronaria descendente anterior izquierda. Los animales se expusieron continuamente por infusión ya sea de AICA ribósido en salino o salino utilizando mino-bombas osmóticas bien
15 conocidas por aquellos con destreza en la técnica. Después de tres semanas, las ratas son sacrificadas y el tamaño de infarto se cuantificó por planimarización de secciones teñidas de corazones fijados. Los resultados mostraron que en corazones tratados con AICA ribósido
20 hubo una reducción de tamaño de infarto 33% en comparación con controles tratados con salino ($p < 0.05$).

EJEMPLO VI

 Efecto de tratamiento de AICA ribósido en arritmias

25 Una consecuencia de isquemia al miocardio es

arritmia y la frecuencia de arritmias se relaciona al
 grado de flujo de sangre reducido. Debido a que
 adenosina se conoce que actúa como un anti-arrítmico y
 suprime la producción de radicales libres-granulocito,
 5 que puede provocar arritmia a través de peroxidación de
 lípido, el efecto profiláctico de tratamiento AICA
 ribósido en arritmias fue determinado.
 Electrocardiogramas registrados durante isquemia del
 Ejemplo III se analizaron por el número de
 10 despolarizaciones ventriculares prematuras (PVD =
 premature ventricular depolarizations) y episodios de
 taquicardia ventricular (VTAC = ventricular tachycardia).
 La Tabla 2 muestra que los perros tratados con salino
 tuvieron 112.2 PVD y 18.2 episodios de VTAC durante
 15 isquemia, en comparación con 37.8 PVD y 4.7 episodios de
 VTAC para los animales tratados con AICA ribósido
 ($p < 0.01$). El perro tratado con AICA ribósido (#3 con
 arritmias frecuentes tuvo mucho menores velocidades de
 flujo de sangre colateral y concentraciones de adenosina
 20 (pero una concentración de sangre de AICA ribósido-sangre
 de 27.2 μM) en comparación con los otros perros tratados
 con AICA ribósido.

TABLA 2

GRUPO DE	ARRITMIAS (EPISODIOS/h)
TRATAMIENTO	

SALINO	PVD	VTAC
1	101	10
2	144	23
3	232	44
4	57	4
5	27	6
PROMEDIO	112.2	18.2

GRUPO DE TRATAMIENTO		ARRITMIAS (EPISODIOS/h)
SALINO	PVD	VTAC
AICA RIBÓSIDO	PDV	VTAC
1	12	1
2	10	0
3	182	27
4	4	0
5	13	0
6	6	0
PROMEDIO	37.8	4.7

EJEMPLO VII

Inhibición de AMP Deaminasa por AICA ribótido y moléculas relacionadas

5 Como se ilustra en los resultados experimentales establecidos en la Figura 6, la enzima que utiliza AMP, AMP deaminasa, se inhibe por los derivados

fosforilados de AICA ribósido y ribavirina. Las formas fosforiladas se refieren como AICA ribótido y monofosfato de ribavirina, respectivamente. Utilizando 200 μ M de cada ribótido, AMP deaminasa se inhibió 38% y 54% respectivamente. El ensayo de enzima se realiza al medir la conversión de ^{14} C-AMP a ^{14} C-IMP (adaptada de T. J. Wheeler and J. M. Lowerstein, J. Biol. Chem. 254:8994 (1979). La reacción se realiza utilizando lisados citoplásmicos de una línea linfoblasto humano como se describe por Gruber et al., Biochim. Biophys. Acta 846: 135-144, 1985. Los substratos y productos se separan en placas de cromatografía de capa delgada y cuentan en un contador de destelleo líquido. La inhibición de esta enzima lleva a un aumento en la concentración de AMP; el precursor directo de adenosina, en la célula.

EJEMPLO VIII

Efecto de adenosina en interacción de célula endotelial/granulocitos.

Estudios se realizaron para demostrar si la adenosina reduce la afinidad adhesiva, o "adherencia" de granulocitos para células endoteliales, un evento que habrá de incrementar el flujo de sangre en microvasos. El parámetro medido fue el esfuerzo fractura entre los dos tipos de células.

La adenosina disminuye la tensión por fractura

entre granulocitos y células endoteliales (que forran las paredes de los vasos) por un factor de dos como se mide por un incremento doble en la velocidad de rodamiento en micro-vasos expuestos a adenosina por superfusión con una
5 solución de 20 μ M, dando por resultado una concentración de aproximadamente 2 μ M en el vaso. Estos estudios se realizaron por filmación de microscopia intravital de granulocitos en micro-vasos de mesenterio de rata. La velocidad por rodamiento de granulocitos en comparación
10 con la velocidad de corriente de glóbulos rojos se calculó antes y después de la administración de adenosina.

EJEMPLO IX

Efecto de AICA Ribósido en Acumulación de
15 Granulocitos en Miocardio Isquémico

AICA ribósido disminuye la acumulación de granulocitos etiquetados con ^{111} indio en miocardio isquémico. En una serie de perros como se describe en el Ejemplo III, los granulocitos se retiraron y etiquetaron
20 con ^{111} indio y volvieron a infundir. Después de una hora de isquemia, los animales se sacrificaron y los granulocitos se cuantificaron en tejido de miocardio al determinar el contenido de ^{111} indio en biopsias de miocardio utilizando un contador γ . El contenido de
25 granulocitos en endocardio isquémico fue

significativamente menor en perro tratados con AICA ribósido ($1.03 \pm 0.21 \times 10^6$ células/gramo) que en animales tratados con salino ($1.55 \pm 0.24 \times 10^6$ células/gramo). Determinación de microesferas

5 radioetiquetadas de flujo de sangre colateral dió resultados esencialmente idénticos a aquellos mostrados en el Ejemplo III, es decir un flujo de sangre en los perros tratados con ACA ribósido que fue significativamente mayor que en animales tratados con
10 salino.

EJEMPLO X

Tratamiento de Pacientes Autistas con AICA Ribósido

Se realizaron estudios para determinar los
15 efectos benéficos de tratamiento de individuos autistas con AICA ribósido.

Después de autorización, pruebas terapéuticas con AICA ribósido se iniciaron en dos pacientes con deficiencia de adenilosuccinasa (autismo). La prueba
20 terapéutica se inició el Día 1 por administración oral de AICA ribósido a la dosis sencilla de 5 mg/kg/día. Este mismo día, se tomaron muestras de sangre y orina en diversos intervalos de tiempo y una sola función lumbar se realizó en cada paciente, respectivamente dos y tres
25 horas después de la administración de AICA ribósido. En

vista de la ausencia de efectos secundarios clínicos, la misma dosis de AICA ribósido se suministró durante los siguientes días, durante los cuales dos pacientes permanecieron en el hospital, y se continuó la recolección de orina. Ya que no se notaron efectos adversos en la administración del nucleósido, la dosis de AICA ribósido se aumentó a 2 x 5 mg/kg/día y los pacientes se dieron de alta el Día 8, con esta terapia. El Día 55, ambos pacientes fueron reingresados brevemente para evaluación clínica, bioquímica y siquiátrica. En la ausencia de efectos secundarios clínicos, la dosis de AICA ribósido se aumentó a 2 x 10 mg/kg/día del Día 46, en adelante. El tratamiento se mantuvo hasta el Día 71 y se separó en esta fecha.

El Día 119 se realiza una prueba de carga intravenosa con una dosis de 20 mg/kg/día, seguida después de una hora por una punción lumbar, con el propósito particular de estimar la penetración de AICA ribósido en el fluido cerebro-espinal (CSF = cerebro-spinal fluid).

En todas las dosis empleadas, AICA ribósido no pudo detectarse en plasma y CSF con metodología disponible. El nucleósido sin embargo se reabsorbe en el intestino, como se evidencia por el hallazgo que durante administración oral crónica su derivado trifosfato,

trifosfato AICA ribósido, estuvo presente en los eritrocitos. Una hora después de administración intravenosa, AICA ribósido también fue indetectable en plasma, pero trifosfato de AICA ribósido se acumuló
5 similarmente en los eritrocitos, indicando una absorción celular rápida y metabolismo de AICA ribósido. Una evaluación correcta de la pérdida renal del nucleósido no pudo obtenerse.

La administración de AICA ribósido permaneció
10 sin efecto significativo en la salida urinaria de los dos compuestos anormales excretados por estos pacientes, succiniladenosina y SAICA ribósido, y la de ácido úrico. Tampoco influencia significativamente la concentración de ATP y GTP en los eritrocitos. Las concentraciones de
15 trifosfato de AICA ribósido alcanzadas, después de administración oral así como intravenosa de AICA ribósido, fueron de la misma magnitud que aquellas de GTP.

La evaluación del desarrollo mental de ambos
20 pacientes justo antes del inicio de la prueba terapéutica con AICA ribósido mostró retardo sicomotor profundo (desarrollo mental alrededor de tres meses en las escalas de Bayley), acompañado por las siguientes características autistas: movimientos descoordinados estereotípicos,
25 ausencia de reacción a estímulos auditivos y táctiles y

deficiente reacción a estímulos visuales.

La reevaluación de estas características, después de dos meses de administración de AICA ribósido continua no muestran ninguna modificación en el paciente mayor. Su hermana más joven; sin embargo, exhibió una mejora marcadamente clara: movimientos estereotípicos fueron menos frecuentes, respuesta a estímulos visuales se mejoró y más notable reacciones a estímulos auditivos y táctiles ahora pudieron registrarse. Dos meses después, después de la interrupción por seis semanas de tratamiento con AICA ribósido, ambos pacientes fueron descritos como "más agradablemente activos y más fácil de manejar durante terapia" por el padre, de esta manera señalando su petición por reanudar la prueba.

Los siguientes parámetros se encontraron normales antes y durante el tratamiento de prueba con AICA ribósido: conteo de glóbulos rojos, conteo de glóbulos blancos, conteos de plaquetas y reticulocitos; diferenciaciones de leucocitos; hematócrito, ionograma, Ca, fosfato, urea, creatinina, ácido úrico, colesterol, lípidos, SGOT, SGPT, CPK, glucosa, lactato y amoníaco.

EJEMPLO XI

Efecto de Ribavirina en Desgranulación de Mastocitos

Al evitar la desgranulación de mastocitos, es

posible evitar o controlar la respuesta alérgica del paciente. Médula ósea obtenida de fémures de ratones Balb/C se cultivó en una mezcla 1:1 de medio Razin y medio acondicionado, producido por co-cultivo de
5 esplenocitos a partir de ratones C57B 1/6J y C3H en la presencia de Concanavalina A y descrito por Razin et al. in the Proc. Natl. Acad. Sci. USA 28: 2559-2561, 1981. Después de paso semanal y al menos 15 días en cultivo de tejido, las células resultantes fueron 90% mastocitos
10 puros y 95% viables como se estima por exclusión de azul Triptano. Células expuestas a ribavirina en cultivo se lavaron tres veces antes de uso en experimentos. Cultivos paralelos de células desarrolladas en medio solo se emplearon como controles para mastocitos manipulados
15 farmacológicamente. El desarrollo celular se estimó al contar células en puntos en tiempo particulares y comparar números actuales de células tratadas con ribavirina con números de células desarrolladas en medio solo.

20 β -hexosaminidasa, se seleccionó como un mediador de mastocitos preformado asociado con gránulo representativo, debido a que se cuantifica fácilmente, y su liberación casi idéntica es paralela a la de histamina. Mastocitos derivados de médula ósea o ratón
25 se centrifugaron a 200 x g por 5 minutos, lavaron tres

veces en amortiguador Tyrode que carece de cationes divalentes, sensibilizó por 30 minutos a 37 grados C con anti-DNP (dinitrofenil fosfato) IgE ($1 \mu\text{g}/10^6$ células) y sometió ya sea con antígeno DNP-BSA ($175 \text{ ng}/3 \times 10^5$ células) o A23187 ($10 \mu\text{g}/\text{ml}/3 \times 10^5$ células) en $400 \mu\text{l}$ de amortiguador Tyrode completo por 10 minutos a 37 grados C. Mezclas de reacción se centrifugaron a $200 \times g$ por 10 minutos, y concentraciones de sobrenadante y precipitado β -hexosaminidasa se ensayaron por la hidrólisis de p-nitrofenil- β -D-glucosamida como se describe por Schwartz et al. in J. Immunol. 123, 1445 (1979). Se determinó duración β -hexosaminidasa espontánea en células sin tratar. El por ciento neto de β -hexosaminidasa desprendido se define como sigue:

$$\frac{[\beta\text{-hex}]}{\text{super.}}$$

en donde $[\beta\text{-hex}]$ es β -hexosaminidasa y super. es sobrenadante. Cuando está presente adenosina exógena en mezclas de reacción, se agregó simultáneamente con el secretagogo.

Mastocitos derivados de médula ósea de ratón sometidos con A23187 o DNP-BSA antígeno liberaron 8-15% del total de células β -hexosaminidasa, un mediador asociado con gránulos preformado. Ribavirina ($10 \mu\text{M}$) agregada al tiempo de estímulo de mastocitos no afecta la liberación de β -hexosaminidasa. Sin embargo, mastocitos incubados por tres a siete días en ribavirin $10 \mu\text{M}$,

lavados y sometidos con A23187 exhibieron una atenuación marcada de liberación de β -hexosaminidasa en comparación con células paralelas cultivadas en medio solo (Figura 10). Los asteriscos (*) identifican datos significativamente diferentes de células de control ($p < 0.05$). Exposición de ribavirina no altera el contenido de mediador de mastocitos (es decir, concentración total de células de β -hexosaminidasa) ni viabilidad celular, y la liberación espontánea de β -hexosaminidasa fue similar en los dos grupos de células. La relación dosis-respuesta entre exposición de ribavirina y liberación de mediador preformado se ilustra en la Figura 11. Aunque $1 \mu\text{M}$ de ribavirina por seis días inhibe la liberación de mediador significativamente, inhibición máxima se evidencía entre $10 \mu\text{M}$ y $20 \mu\text{M}$.

EJEMPLO XII

Regulación de activación de mastocitos y desgranulación por AICA ribósido

La activación y desgranulación de mastocitos juega un papel clave en enfermedades alérgicas tales como asma. De esta manera, un medio para evitar activación y desgranulación produce una forma para controlar la enfermedad.

A. Aislamiento de mastocitos. Para demostrar la prevención de desgranulación y activación por método

reivindicado, las células primero se aislaron y cultivaron como se describe en el EJEMPLO XI.

B. Efecto de AICA ribósido en desgranulación.

Inhibición de desgranulación por AICA ribósido se demostró al mostrar que AICA ribósido inhibe la desgranulación inducida por el ionóforo de calcio, A23187, como se refleja en la liberación de exoglicosidasa ácida, β -hexosaminidasa, A23187 a 1 μ g/ml, con o sin AICA ribósido, se agregó a $2-5 \times 10^6$ mastocitos a 37 grados C, en amortiguador Tyrode, y la cantidad de β -hexosaminidasa mastocito liberada fue medida. En la presencia de AICA ribósido 100 micromolar, solo 17.6% de hexosaminidasa se liberó, mientras que 28.8% se liberó en su ausencia. De esta manera, AICA ribósido inhibe la desgranulación de mastocitos. El porcentaje liberado de β -hexosaminidasa, así como el método de ensayar la enzima se realizó como se describe por Schwartz et al. in the J. of Immun., Vol. 123, October, 1979, p. 1445.

Efecto de AICA ribósido en liberación de C_4 leucotrieno

Efecto de AICA ribósido en liberación de leucotrieno C_4 . Células desarrolladas en medio solo o con AICA ribósido 100 μ M por seis días se lavaron y trataron por 20 minutos con A23187. Se determinaron

concentraciones de leucotrieno C_4 sobrenadante mediante radioinmunoensayo y demostró que son 51 y 13 nanogramos/ 10^6 células para células de control y tratadas con AICA ribósido, respectivamente. La liberación de leucotrieno C_4 se redujo significativamente ($p < 0.01$) en 75% del pre-tratamiento de AICA ribósido. Resultados similares se obtuvieron en pre-tratamiento de cuatro a seis días con ribavirina $10\mu M$ en donde se logró activación de mastocitos con enlace de antígeno a IgE en la superficie de mastocito.

EJEMPLO XIII

Supresión de Ataques Inducidos por Pentilen Tetrazol.

Para probar la habilidad de AICA ribósido en suprimir ataques inducidos por pentilen tetrazol, ratas (10 para cada condición) fueron pretratadas (en forma aleatoria y ciega) con AICA ribósido intraperitoneal en salino (0.9%) a 1000 mg/kg o 100 mg/kg, o un volumen equivalente de salino por treinta minutos y cinco minutos antes de inyección de 60 mg/kg pentilen tetrazol. Los animales se observaron durante una hora por dos expertos en ataques independientes. Hubo una reducción de 40% de animales que tienen ataques en el grupo que recibe 2000 mg/kg (dosis total) y una prolongación dramática de latencia a ataque en este grupo (FIGURA 12).

EJEMPLO XIV

Supresión de Arritmia Inducida por Catecolamina

Para determinar si AICA ribósido protegerá el corazón contra arritmias inducidas por isoproterenol (isuprel) nueve pares de ratas fueron probadas con un animal de que cada par inyectada intraperitonealmente con 1000 mg/kg de AICA ribósido en agua. El otro animal de cada par sirvió como control y se inyectó similarmente con salino (0.9%) en un volumen igual al de la solución de AICA ribósido. Cinco minutos después ambos animales fueron anestesiados con 330 mg/kg de hidrato cloral inyectado intraperitonealmente. Después una sola terminal de EKG se conectó a cada rata para registro simultáneo de los electrocardiogramas de ratas en pares. Para producir arritmia, cada rata se le inyectó subcutáneamente (1000 mg/kg).

Empezando 30 minutos después de introducción de isuprel, la velocidad de papel de registro de electrocardiógrafo se corrió (5 cm/seg) por diez minutos para contar los latidos arrítmicos de ambos animales.

Hubo una reducción del 39% en contracciones ventriculares paroxismales y una supresión completa de fibrilación ventricular en ratas tratadas con AICA ribósido (FIGURA 13).

Mediante los siguientes experimentos, el

solicitante determinado las concentraciones y dosis de AICA ribósido con disminución de la frecuencia, duración y severidad de eventos isquémicos y que disminuyen el daño de tejido, mientras que evitan efectos secundarios
5 tales como niveles de ácido úrico urinario y suero elevados clínicamente significantes y cristaluria. El solicitante también ha determinado que las concentraciones y dosis de AICA ribósido que evitan o reducen la severidad de resultados clínicos adversos,
10 tales como eventos cardiovasculares y cerebrovasculares adversos.

Los siguientes Ejemplos no limitan la invención. Aquellos en la técnica reconocerán que la administración de AICA ribósido en las cantidades
15 establecidas reducirá el daño del tejido que resulta por flujo de sangre disminuido y reducirá la incidencia de resultados clínicos adversos, tales como eventos cardiovasculares y cerebrovasculares, en casos diferentes a cirugía CABG por igual.

20

EJEMPLO 1

EFFECTOS DE AICA RIBÓSIDO EN PACIENTES QUE SE SOMETEN A CIRUGÍA DE INJERTO DE PUENTE DE ARTERIA CORONARIA O CIRUJÍA DE REVASCULARIZACIÓN CORONARIA (CABG = CORONARY ARTERY BYPASS GRAFT): PRUEBAS CLINICAS FASE 2

25

Estos experimentos se llevan a cabo para

estimar los efectos de AICA ribósido en la frecuencia, duración y severidad de eventos isquémico cardíacos y función ventricular izquierda durante y después de cirugía CABG. El efecto de tratamiento AICA ribósido en la dificultad en ablactación cardiopulmonar también fue
5 estimado. Además, el efecto de AICA ribósido en la incidencia de ciertos resultados clínicos adversos se evalúa.

Diseño de Estudio

10 Estudio de grupo paralelo controlado con placebo de múltiples dosis doble ciego al azar multicentrado que evalúa 118 pacientes en cuatro centros. Pacientes programados para cirugía CABG sin emergencia se asignaron aleatoriamente para tratamiento con una de dos
15 dosis de AICA ribósido, o placebo, por infusión continúa a través de procedimiento. Resultados clínicos, hemodinámica y la ocurrencia y severidad de isquemia (por electrocardiografía) (ECG) continua y electrocardiografía transesofágica (TEE = transesophageal echocardiography)
20 se registraron y compararon entre los grupos de tratamiento.

Pacientes.

Incluidos en el estudio fueron mujeres sin potencial para tener hijos y hombres que tenían cuando
25 menos 30 años de edad y programados para tener cirugía

CABG sin emergencia para el tratamiento de enfermedad de arteria coronaria confirmado por cambios típicos (al menos 50% de estenosis de dos o más vasos mayores) como se ilustra por angiografía coronaria que se lleva acabo dentro de un periodo de seis meses antes de cirugía. 5 Pacientes con angina inestable fueron incluidos, siempre que el paciente estuviera estable por al menos 24 horas y que no ocurriera infarto al miocardio dentro de las 2 semanas previas. Se excluyen del estudio pacientes que se someten a CABG de emergencia o CABG repetida; aquellos 10 con fracción de expulsión en reposo con menos de 30%, índice cardíaco menor a 1.5 L/min/m^2 , o con cardiomiopatía idiopática, enfermedad valvular significativa, hipertrofia ventricular izquierda severa o anormalidades de conducción intraventricular mayores. 15 También se excluyeron pacientes con diabetes mellitus dependiente de insulina o estados hipoglicémicos, enfermedad hepática o renal, gota no controlada o una historia reciente de alcohol o abusos de otra profármaco. 20 Terapia trombolítica se prohibió dentro de las dos semanas antes del estudio, amiodarona por 60 días y dipyridamol, teofilina y aminofilina por 24 horas antes del estudio. Se prohibieron fumar e ingestión de cualesquiera alimentos o bebidas que contengan metilxantina 25 desde 12 horas antes del administración de la profármaco

hasta alta medica de la unidad de cuidados intensivos.

Tratamiento y métodos.

Pacientes programados para cirugía CABG y seleccionados como se describió anteriormente se
5 asignaron aleatoriamente para recibir una infusión de AICA ribósido (0.19 mg/kg/min o 0.38 mg/kg/min inicialmente; 0.05 mg/kg/min o 0.1 mg/kg/min después de los primeros seis pacientes) o placebo empezando poco antes de inducción de anestesia y continuando por siete
10 horas; en todos los casos esto significa que la infusión no se terminó hasta que se completara la cirugía y el paciente recuperará en la unidad de cuidados intensivos. AICA ribósido (concentración final 20 μ M) o placebo también se agregó a la solución cardioplégica cristaloide
15 utilizada para perfusión de la circulación coronaria durante el periodo de derivación. No se agregaron otras profármacos a la solución cardioplégica cristaloide.

Durante el periodo pre-operativo, una historia rutina, un examen físico, determinaciones de laboratorio,
20 electrocardiograma (ECG) y rayos X del pecho se obtuvieron. Una grabación ECG continúa (Holter) por un mínimo de 8 horas antes de intubación se obtuvo. Medicamentos cardiovasculares rutinarios se continuaron hasta la mañana de la cirugía como se indicó.
25 Inmediatamente antes de iniciar la cirugía, se colocó un

catéter en la arteria radial para mediciones de presión sanguínea y muestreado de sangre arterial. Un catéter de termo dilución de triple lumen se introduce en la arteria pulmonar para mediciones hemodinámicas. Después de
5 intubación traqueal, un transductor ecocardiográfico se coloca a nivel de los músculos papilares medios utilizando el enfoque transesofágico.

Durante cirugía, se mantuvo anestesia por infusión continua de fentanil y midazolam. Parámetros
10 clínicos rutinarios se registraron utilizando equipo de supervisión de sala de operación estándar. Se registraron datos ECG Holter y TEE de dos terminales continuas. Procedimientos quirúrgicos estándar (por ejemplo pinzamiento transversal de la aorta, cardioplegia
15 cristaloide, derivación o puente cardiopulmonar, hipotermia) se emplearon. Se construyeron anastomosis, se retiraron los pinzamientos transversales de la aorta y se interrumpió el puente de los pacientes cuando la temperatura del cuerpo fue 37 grados C. La calidad de
20 anastomosis se juzgó por el cirujano. La dificultad en separar del puente se juzga por la necesidad de uno o más de los siguientes: marcapasos, regreso a puente, bomba de globo o administración de vasopresor. Mediciones hemodinámicas incluyendo ritmo cardíaco, presión de
25 sangre arterial, presión de cuña capilar pulmonar y

salida cardíaca, se registraron antes de esternotomía, 15 a 30 minutos después de puente y ante cierre del pecho. Las presiones de arteria radial y arteria pulmonar, la temperatura de miocardio y todo el cuerpo, saturación de 5 O₂, gases en sangre arterial y CO₂ al final de la espiración o exhalación se midieron, y se obtuvieron registros de ECG como se indica clínicamente. Variables hemodinámicas (presión sanguínea, ritmo cardíaco, presión de cuña capilar pulmonar) se controlaron dentro de 20% de 10 la línea base utilizando los regímenes predeterminados.

Durante el periodo post operativo a través del primer día post operativo, se emplearon morfina y midazolam para sedar y analgesia. Los medicamentos cardiovasculares requeridos se registraron. Durante este 15 período, se realizó supervisión ECG continua (Holter) por hasta 48 horas. Mediciones hemodinámicas (presiones de arterias pulmonares y salida cardíaca) se obtuvieron a 2, 4, 8 y 12 horas (en algunos casos a 24 y 48 horas) y también cuando se indicó clínicamente.

20 Un ECG de 12 terminales se obtuvo al llegar a la unidad de cuidados intensivos y durante los días post operativos 1, 2, 3 y a la alta médica del hospital. La banda MB de fosfocinasa creatinina (CK-MB) se obtuvo cada 8 horas por 48 horas y cuando se indique. 25 Ventriculografía de radio-nuclido para fracción de

expulsión y calificación de movimiento de pared se realiza aproximadamente 14 días posteriores a operación y lo más cercana a la alta médica de hospital como sea posible. Otras pruebas y medidas (por ejemplo rayos X del

5 pecho, presión de cuña de arteria pulmonar (PCWP = pulmonary artery wedge pressure) se realizaron cuando se indica clínicamente para diagnóstico o evaluación de infarto al miocardio, o falla cardíaca congestiva. La sincronización y dosis de todos los medicamentos

10 cardiovasculares dentro de 48 horas después de cirugía se registraron. La dosis total de todos los analgésicos durante el periodo post operativo de 24 horas se registró. La ingesta y salida de fluidos (por ejemplo reemplazo de sangre y salida de orina) se registraron por

15 48 horas. Tipo y duración de soporte inotrópico e intervención antiarrítmica requeridos se registraron hasta por 24 horas después de cirugía. Registros Holter de dos canales se obtuvieron durante tres periodos, las ocho horas antes de intubación, la intubación al final de

20 cirugía y por 24-48 horas adicionales después de cirugía.

Evaluación de Seguridad

Además de la supervisión hemodinámica descrita anteriormente, se realizaron las siguientes pruebas en criba, en el primer día post operativo y en alta médica:

- 25 1. Hematología incluye hemoglobina, conteo de

glóbulos blancos total y diferencial, hematocrito y conteo de plaquetas.

2. Bioquímica incluye sodio en suero, potasio, cloruro, fósforo, magnesio, urea, creatinina, transaminasa pirúvica glutámica en suero (SGPT = serum glutamic pyruvic transaminase), transaminasa oxaloacética glutámica en suero (SGOT = serum glutamic oxaloacetic transaminase), bilirrubina total, albúmina, proteína total, ácido úrico, fosfatasa alcalina, creatina fosfoquinasa y CPK-MB. CPK-MB también se midió cada ocho horas por 48 horas después del cierre del hecho. Niveles de glucosa en la sangre y ácido úrico se midieron antes de infusión, puente cardiopulmonar (CPB), después de CPB, al llegar a la unidad de cuidados intensivos (ICU = intensive care unit) y al 4 y 8 horas posteriormente. Los niveles también se emitieron 24 horas posteriores a CPB y a la alta médica.

3. Urinálisis incluye sangre, pH, proteína, glucosa, cetonas, glóbulos rojos, cilindros leucocitarios y cristales. La orina también se recolectó antes de tratamiento, al final de infusión y 4 u 8 horas después del fin de infusión, para determinar contenido de ácido úrico.

4. Cualesquiera eventos adversos se registraron por el investigador, quien estimó su severidad y la

relación de estas experiencias adversas para el tratamiento.

Evaluación de Eficacia

Una medida de eficacia fue el grado al cual
5 AICA ribósido redujo la incidencia, duración y/o
severidad de eventos isquémicos (por comparación de
cambio de segmento S-T en registros Holter continuos
antes, durante y por 48 horas después de procedimiento).
La eficacia de AICA ribósido para reducir los efectos
10 nocivos de isquemia en mecánica del miocardio (al evaluar
movimiento de pared regional en TEE durante los periodos
pre y post fuente y por medición de expulsión pre y post
operativa), también fueron determinados. La evaluación de
cintas Holter y videocintas eco se realizó centralmente
15 por dos observadores cegados independientemente; si hubo
desacuerdo entre los dos, se empleó un tercer observador
para "desempate". Los mismos observadores se emplearon
para el estudio.

La incidencia de resultados clínicos adversos,
20 tales como muerte cardíaca (muerte de paciente atribuible
a causas primordialmente cardíacas, MI transmural no
fatal) como se mide por la aparición de una nueva onda Q
en ECG de 12 terminales más un valor CK-MB de ≥ 50
unidades). MI no transmural (valor CK-MB de ≥ 50
25 unidades), falla cardíaca congestiva (baja slaida

cardíaca que requiere bomba de globo intraaórtico o dispositivo de asistencia ventricular izquierda) o disrritmia que amenaza la vida (fibrilación ventricular, o taquicardia ventricular que requiere cardioversión o tratamiento con profármaco) se comparó entre los grupos de placebo y tratamiento. Para el diagnóstico de infarto al miocardio, trazos ECG y valores CK-MB se estimaron centralmente por observadores ciegos al tratamiento. La dificultad de la separación del paciente del puente de haber, se comparó entre grupos de placebo y tratamiento al notar necesidad por uno o más de los siguientes: marcapasos, retorno al puente, bomba de globo o uso de vasopresores.

Análisis Estadístico

Los resultados reportados aquí no cubren todos los parámetros medidos sino dirigen las mediciones citadas a continuación utilizando los métodos indicados.

1. Comparabilidad de Grupo. Para estimar la comparabilidad entre los tres grupos de tratamiento, se evaluaron las siguientes mediciones de línea base e intraoperativas utilizando análisis de una vía de variancia para variables continuas y prueba chi-cuadrado en tablas de contingencia para variables discretas.

2. Línea Base. Edad, sexo, historia cardiovascular (angina, hipertensión, MI previo, CHF,

arritmia), fracción de expulsión, datos de cateterización (números de vasos con estenosis), número de eventos isquémicos previos al puente y minutos por hora de isquemia (medido por Holter ECG).

5 3. Intraoperativo. Número de vasos injertados, tiempo de pinzamiento transversal aórtico, tiempo de cirugía, tiempo de puente o derivación.

 4. Resultado Clínico. Resultados de muerte cardíaca, MI, CHF y disrritmia que amenaza la vida se
10 compararon. Puntos extremos específicos para análisis se combinaron en un punto extremo dicótomo, es decir al menos uno de los cuatro eventos anteriormente citados ocurre contra ninguno. Prueba exacta de Fisher para
pequeñas muestras se utiliza para comparar las
15 velocidades de resultados clínicos entre los tres grupos de tratamiento. La misma comparación se realizó de los tratamientos activo contra placebo combinados.

 5. Eventos Isquémicos-TEE. Datos de evento isquémico se evaluaron durante dos periodos de tiempo -
20 previo al puente y posterior al puente utilizando los siguientes análisis:

 a) El número de pacientes con eventos isquémicos se comparó a través de los grupos utilizando la prueba exacta de Fisher. Este análisis también incluye
25 cambios pre- y post-combinados.

b) Para pacientes con eventos, análisis de la duración promedio y severidad de isquemia se realizó. Utilizando sólo los pacientes con eventos isquémicos se reduce el número incluido en el análisis, pero permite la determinación de si la profármaco es efectiva para reducir la magnitud de los eventos, en caso de que ocurran. La distribución de duración de isquemia se encontró sesgada, de manera tal que se utilizó una transformación $\log_{10}$ para inducir una distribución normal y ANOVA de una vía se utilizó para comparar los grupos. Para severidad (una variable ordinaria, escale 0-4) y número de eventos, la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis fue empleada. Las mismas comparaciones se realizaron con los grupos de tratamiento activos combinados.

6. Eventos Isquémicos--ECG. el análisis de eventos isquémicos indicado por ECG se realizó utilizando los mismos métodos que los eventos eco. Los periodos de tiempo analizados fueron: (a) línea base (inicio Holter a inicio de infusión), (b) pre-puente (inicio de infusión a inicio de puente), (c) post-puente (separación de pinzado lateral a extremo de infusión), (d) post-tratamiento (fin de infusión a fin de Holter). Para pacientes con eventos, se analizaron las siguientes variables: duración promedio, cambio ST máximo y área bajo la curva de

desviación de segmento ST significativa. Se empleó análisis de variancia (ANOVA).

Las mismas comparaciones se realizaron con los grupos de tratamiento activos combinados.

5 7. Isquemia contra Resultado. Las relaciones entre isquemia (TEE y ECG) detectadas durante los periodos de tiempo anteriormente establecidos y resultados clínicos se analizaron utilizando la prueba exacta de Fisher (ver J. Leung, et al.: Prognostic
10 Importance of Postbypass Regional Wall-Motion Abnormalities in Patients Undergoing Coronary Artery Bypass Graft Surgery. Anesthesiology 71 : 16-25, 1989).

8. Dificultad para Separar. Pacientes se consideró que tuvieran dificultad en separar si requieren
15 una o más de las siguientes intervenciones: marcapasos, regreso a puente, bomba de globo o uso de vasopresores. El número de pacientes que reciben cada una de las intervenciones anteriores se analizó una prueba exacta de Fisher y X^2 como el número de pacientes clasificados que
20 tienen dificultad para separación. Además, el tiempo de separación (definido como el tiempo de separación de pinzamiento transversal a fin de puente) en los pacientes que experimentan dificultad, se comparó por análisis de una vía de variancia.

25 9. Fracción de elección. Fracciones de

expulsión pre-operativa y post-operativa se midieron utilizando diferentes metodologías; por lo tanto, no pudieron analizarse estadísticamente los cambios. Fracciones de inyección promedio de grupo y pre- y post- CABG se presentan y las diferencias aparentes entre grupos se describieron.

10. Niveles de Plasma. Niveles en plasma de AICA ribósido se midieron para verificar coincidencia con tratamiento al azar y para documentar proporcionalidad de dosis y para evaluar niveles de plasma logrados. Valores individuales y promedios de grupo se tabularon y calcularon la liberación de profármaco. La proporcionalidad de dosis fue estimada.

11. Efectos Adversos. La incidencia, severidad y relación con profármaco de cualesquiera efectos adversos se tabularon por grupo de tratamiento al disminuir la incidencia de estos efectos en el grupo de alta dosis. Análisis estadístico no se realizó.

12. Datos de Laboratorio. Para parámetros selectos de interés, valores individuales, cambios promedio y cambios en por ciento de línea base se tabularon y trazaron con el tiempo por grupo de tratamiento. Se atendieron los siguientes parámetros:

Ácido úrico-orina, creatinina, proporción de ácido úrico/creatinina, pH, volumen, cristales. Todos los

valores se tabularon como promedio $\pm$ S.E.M.

Química de sangre-CPK, CKMB, ácido úrico, glucosa. Todos los valores se tabularon como promedio $\pm$ S.E.M.

5 Resultados

Los estudios aquí descritos representan la primera exposición de infusión continua prolongada de AICA ribósido a pacientes que se someten a anestesia, cirugía de puente corazón-pulmón e hipotermia. Niveles de
10 dosis se han evaluado utilizando resultados de sujetos voluntarios sanos o pacientes normotérmicos conscientes y hubo incertidumbre en cuanto a la aplicabilidad de estudios farmacocinéticos utilizando periodos cortos de infusión en sujetos voluntarios sanos o pacientes
15 normotérmicos conscientes.

Los primeros seis pacientes incluidos en el estudio se les suministraron dosis de 0.19 mg/kg/min y 0.38 mg/kg/min. Cuando los niveles de plasma de AICA ribósido se midieron, se encontraron inesperadamente de 2
20 a 4 veces aproximado superiores que lo anticipado. Mientras que el solicitante no desee estar ligado por ninguna teoría particular, superiores niveles de AICA ribósido pueden haber resultado debido a metabolismo de profármaco reducido por bajo flujo de sangre del hígado e
25 hipotermia. Los niveles superiores también se han debido

al efecto de infusiones prolongadas en la velocidad de liberación. Los niveles de dosis se redujeron de 0.19 y 0.38 mg/kg/min a 0.05 y 0.1 mg/kg/min. Esto logra la concentración en plasma de estado estable de
5 aproximadamente 2.5 y 5.0 $\mu\text{g/ml}$ en pacientes subsecuentes. Resultados de estos tres primeros 6 pacientes que se estudiaron con la dosis alta inicial, se resumen a continuación y se incluyeron en el análisis de seguridad total. Excepto por el paciente A4 que recibió
10 placebo, estos resultados no se incluyeron en evaluación de eficiencia a menos que se establezca expresamente respecto a estos resultados.

En el grupo de dosis alta inicial hubo cuatro pacientes que recibieron la dosis menos (0.19 mg/kg/min),
15 uno que recibió la dosis alta (0.38 mg/kg/min) y un paciente de placebo. En general, la profármaco fue bien tolerada y no hubo experiencias adversas serias. Como se ilustra en la Tabla 1, se elevaron los niveles de glucosa en la sangre en todos los pacientes la mayoría de las
20 veces; no hubo valores por debajo de los niveles normales. No hubo hiperuricemia significativa y niveles de ácido úrico urinarios elevados con cristaluria, que requiere irrigación del catéter uretral en los cinco pacientes tratados con profármaco (Tabla 1). En estos
25 pacientes, la urina tuvo una coloración clara, verde,

supuestamente debido a altas concentraciones de AICA
ribósido y/o sus productos de descomposición. También,
como se ilustra en los datos en la Tabla 1, no
disminuyeron los niveles de glucosa en la sangre. Aparte
5 de estos efectos en niveles de ácido úrico, orina y
plasma y cristaluria, no hubo eventos adversos que se
consideren relacionados al tratamiento con AICA ribósido.
En la dosis menor (0.19 mg/kg/min), 2 de los 4 pacientes
(A3 y A6) no tuvieron otros eventos adversos, un paciente
10 (A1) tuvo extrasístoles, presión sanguínea lábil y un
episodio de PO₂ de sangre baja, que se corrigió sin
evento. Este paciente también tuvo un carcinoma recto-
sigmoide, claramente no relacionado al tratamiento por la
profármaco y por el cual se instituyó la terapia
15 apropiada. El cuarto paciente de baja dosis (A2) tuvo un
episodio de bloqueo cardíaco completo post-puente,
seguido por hipertensión 4 horas aproximadamente después.
El paciente A5, que recibió 0.38 mg/kg/min, no tuvo
eventos diferentes a elevación de segmento S-T en ECG
20 post-puente.

TABLA 1

DATOS DE LABORATORIO -GLUCOSA Y ÁCIDO URICO EN SUERO
CITA POR PATENTE (en mg/dl) SOLO PRIMEROS 6 PACIENTES

GRUPO	PRUEBA	CRIBA	PRE INF	PRE CPB
-------	--------	-------	---------	---------

207

	TRATAMIENTO	LAB	NO.		
	AICA	(RANGO			
PACIENTE	RIBOSIDO	NORMAL)			
A-01	0.19	GLUCOSA	80	89	91
	mg\kg\min	(65-115	5.6	6.2	7.7
		mg/dl)			
		ÁCIDO			
		URICO			
		(3.5-8.5			
		mg/dl)			
A-02	0.19	GLUCOSA	138 (H)	162 (H)	147 (H)
	mg\kg\min	(65-115	5.8	5.1	6.9
		mg/dl)			
		ÁCIDO			
		URICO			
		(3.5-8.5			
		mg/dl)			
A-03	0.19	GLUCOSA	113	113	91
	mg\kg\min	(65-115	7.2	7.2	9.0 (H)
		mg/dl)			
		ÁCIDO			
		URICO			
		(3.5-8.05			
		mg/dl)			
A-04	PLACEBO	GLUCOSA	116 (H)	116 (H)	99

		(65-115	4.3	4.3	4.2
		mg/dl)			
		ÁCIDO			
		URICO			
		(3.5-8.5			
		mg/dl)			
A-05	0.38	GLUCOSA	124 (H)	111	103
	mg\kg\min	(65-115	73.4	7.4	10.7
		mg/dl)			(H)
		ÁCIDO			
		URICO			
		(3.5-8.5			
		mg/dl)			
A-06	0.19	GLUCOSA	104	104	97
	mg\kg\min	(65-115	5.7	5.7	6.8
		mg/dl)			
		ÁCIDO			
		URICO			
		(3.5-8.5			
		mg/dl)			

TABLA 1 (CONTINUACIÓN)

DATOS DE LABORATORIO -GLUCOSA Y ÁCIDO URICO EN SUERO
CITA POR PATENTE (en mg/dl) SOLO PRIMEROS 6 PACIENTES

PACIENTE	POST	ICU +0	ICU +4	ICU +8	24 HR	ALTA
----------	------	--------	--------	--------	-------	------

	CPB	HR	HR	HR	POST	MÉDICA
A-01	24 (H)	140 (H)	171 (H)	117 (H)	103	153 (H)
	9.5	10.7 (H)	9.2 (H)	8.8 (H)	7.7	10.7 (H)
A-02	302 (H)	213 (H)	205 (H)	190 (H)	150 (H)	159 (H)
	8.5	10.7 (H)	9.8 (H)	9.2	6.4	4.8
A-03	222 (H)	123 (H)	152 (H)	179 (H)	105	129 (H)
	9.8 (H)	10.7 (H)	9.2 (H)	7.3	5.5	6.7
A-04	260	135 (H)	115	103	130 (H)	107
	3.6	3.5	3.8	3.8	3.9	4.4
A-05	227 (H)	104	144 (H)	143 (H)	137 (H)	108
	13.5 (H)	18.3 (H)	16.4 (H)	155 (H)	126 (H)	10.3 (H)
A-06	222 (H)	104	105	103	99	109
	6.9	10.0 (H)	8.7 (H)	7.8	6.0	8.6 (H)

PRE-INF= preinfusión con AICA ribósido o placebo

*PRE CPB = puente pre-cardiopulmonar

POST CPB = Puente post-cardiopulmonar

*ICU +0 = al llegar a la unidad de cuidado intensivo

5 *ICU +4 = cuatro horas después de llegar en la unidad de cuidados intensivos

ICU +8 = ocho horas después de llegar a la unidad de cuidados intensivos

24 HR POST = 24 horas después de puente cardiopulmonar

10 (H) indica un rango superior al normal

Características de Paciente

Las Tablas 2 y 3 muestran datos clínicos y

quirúrgicos que se consideran de importancia de pronóstico para morbilidad perioperatoria. No se encontraron diferencias significantes en ninguno de los parámetros, con las siguientes excepciones: todos los pacientes en el grupo de placebo y de alta dosis, pero sólo 83% del grupo de baja dosis, tuvieron una historia de angina estable ($p=0.021$); hubo tres mujeres en el grupo de baja dosis, ninguna en el de alta dosis, y una en el grupo de placebo ($p=0.090$). Se concluyó que en total los grupos todos fueron bien acoplados respecto a demografía, severidad de enfermedad y extensión de procedimiento quirúrgico.

Hipertensión (%)	20 (49)	19 (54)	25 (68)
Hipercolesterolemia (%)	18 (45)	13 (37)	18 (49)
Infarto al Miocardio (%)	17 (41)	18 (51)	17 (46)
Falla Cardíaca Congestiva (%)	1 (2)	0 (0)	0 (0)
Arritmia Cardíaca (%)	7 (17)	4 (11)	4 (11)
Murmullo Carótida (%)	6 (15)	8 (23)	3 (8)
Fracción de Expulsión (%)	55.0 ± 2.3	58.4 ± 2.4	57.6 ± 2.0

Diastólic extremo	15.3 ± 1.6	15.3 ± 1.7	12.8 ± 1.5
LV			
Presión-mm Hg			
Número de Vasos con	3.3 ± 0.3	3.2 ± 0.2	3.9 ± 0.3
estenosis			

Ninguna diferencia alcanza significancia estadística

TABLA 2

<u>DATOS CLINICOS PREOPERATIVOS</u>			
	<u>0.05</u>	<u>0.1 mg/kg/min</u>	<u>Placebo</u>
	<u>mg/kg/min</u>		
	Número de Pacientes		
Variable	41	35	37
Edad en años	60.4 ± 1.6	62.7 ± 1.5	63.8 ± 1.5
Masculino (%)	34 (83)	33 (94)	34 (92)
Femenino (%)	7 (17)	2 (6)	3 (8)
Isquemia Línes	3 (15)	5 (14)	3 (8)
Base Holter (%)			
Angina Estable	33 (80)	35 (86)	34 (92)
(%)			
Angina Inestable	18 (44)	14 (40)	15 (41)
(%)			
Enfermedad	2 (5)	0 (0)	0 (0)
Valvular (%)			

TABLA 3

DATOS QUIRÚRGICOS			
Variable	0.05	0.1 mg/kg/min	Placebo
	mg/kg/min		
Pacientes (n)			
	41	34	36
Tiempo de Pinzamiento Transversal (min)			
Tiempo de Puente (min)	54.4 ± 2.5	52.4 ± 2.5	53.8 ± 2.9
Tiempo de Cirugía (min)	225 ± 9.3	215 ± 7.1	235 ± 8.8
Número de Vasos Injertados	3.2 ± 0.14	2.8 ± 0.14	3.2 ± 0.16

No hubo diferencias estadísticamente significativa.

Evaluación Total

5 Eventos Adversos

En el ámbito de cirugía CABG, se esperan efectos adversos que ocurren frecuentemente. En este estudio, 29 de 37 pacientes de placebo tuvieron uno o más eventos adversos. Los números de pacientes tratados con profármaco con eventos fueron 30/35 en el grupo de alta dosis (0.1 mg/kg/min), y 28/41 en el grupo de baja dosis

10

(0.05 mg/kg/min). No hubo evidencia de que ninguno de estos eventos ocurriera más frecuentemente en pacientes tratados con profármaco en comparación con placebo.

5 Casi todos estos eventos en todos los grupos de tratamiento fueron ligeros o moderados en severidad y no requirieron otros medicamentos específicos. Otros cinco eventos se categorizaron como severos; dos infartos al miocardio agudos (pacientes A26 y A39), uno de los cuales también tuvo CHF que requiere asistencia de bomba de
10 globo intra-aórtico, una embolia pulmonar (paciente A12), y una embolia arterial en la pierna derecha que requirió amputación (paciente A14).

Hubo una muerte en el estudio a la fecha; el paciente A36, un hombre de 67 años de edad en el grupo de
15 placebo, tuvo angina inestable pre-operativa, hipertensión deficientemente controlada y enfermedad principal izquierda de alto grado. Después de un curso operativo no complicado, desarrolló tensión respiratoria en la unidad de cuidados intensivos y se notó que el
20 ventilador fallaba. Acompasamiento externo y masaje cardíaco interno eventual junto con otras medidas de resucitación no tuvieron éxito.

Virtualmente en todos los casos (incluyendo todos los eventos severos anteriormente citados), se
25 consideraron los eventos por los investigadores no

relacionados a la profármaco, o que la probabilidad de que se debieran a la profármaco fuera remota, con las siguientes excepciones: paciente A2, quien recibió 0.19 mg/kg/min, desarrolló hiperuricemia y gránulos naranja en la orina, y paciente A14, a la dosis de 0.05 mg/kg/min, cuya orina desarrolló la misma coloración verde ya descrita en los pacientes de alta dosis inicial.

Niveles de Glucosa y Ácido Úrico en Suero

Después de los primeros seis pacientes, las dosis de AICA ribósido se redujeron, y no hubo mayores elevaciones clínicas en ácido úrico en suero. Como se ilustra en la Tabla 4a, cambios de medio mostraron una clara tendencia a un incremento relacionado a dosis en ácido úrico en suero en los grupos tratados. Sin embargo, hiperuricemia clínicamente relevante o cristaluria no se vieron. Durante el procedimiento, se proporcionó infusión que contiene glucosa. Como se ilustra en la Tabla 4b, niveles de glucosa en plasma se elevaron en todos los grupos.

20

TABLA 4a

CAMBIOS PROMEDIO DE ÁCIDO ÚRICO EN SUERO DE LÍNEA BASE
(en mg/dl)

215

TIEMPO MUESTRAS	DE	0.05	0.1	PLACEBO
		mg/kg/min (n = 41)	mg/kg/min (n = 35)	(n = 37)
LINEA	BASE	5.9 +/- 0.2	5.7 +/- 0.2	5.9 +/- 0.3
PROMEDIO				
PRE CPB		-0.1 +/- 0.1	0.4 +/- 0.1	0.6 +/- 0.1
POST CPB		-0.6 +/- 0.1	0.4 +/- 0.1	-1.6 +/- 0.1
ICU + 0		-0.3 +/- 0.1	1.5 +/- 0.2	-1.7 +/- 0.1
ICU + 4 HR		-0.1 +/- 0.1	1.6 +/- 0.2	-1.2 +/- 0.3
ICU + 8 HR		-0.0 +/- 0.1	1.4 +/- 0.2	1.3 +/- 0.1
24 HR POST		-0.5 +/- 0.2	0.3 +/- 0.3	-1.2 +/- 0.2
ALTA MÉDICA		0.3 +/- 0.2	-0.1 +/- 0.2	+/- 0.3

TABLA 4b

<u>CAMBIOS PROMEDIO EN GLUCOSA EN SUERO DE LINEA BASE (en</u>				
<u>mg/dl)</u>				
TIEMPO MUESTRA		0.05	0.10	PLACEBO
		mg/kg/min (n = 41)	mg/kg/min (n = 35)	(n = 37)
LINEA	BASE	108.5 + 4.8	120.6 + 7.3	121.0 +

PROMEDIO			15.5
PRE CPB	18.6 + 0.7	4.8 + 3.4	14.5 + 4.4
POST CPB	116.5 + 10.7	120.6 +	138.0 +
		15.9	14.7
ICU + 0	65.6 + 7.6	59.8 + 13.6	96.3 + 12.8
ICU + 4 HR	53.6 + 11.9	55.5 + 9.6	76.5 + 14.6
ICU + 8 HR	58.8 + 12.1	44.4 + 7.5	65.6 + 12.4
24 HR POST	44.2 + 7.4	27.2 + 7.3	45.0 + 6.3
ALTA MÉDICA	18.7 + 6.3	19.2 + 7.0	18.6 + 9.0

(Ver Tabla 1 para explicación de abreviaturas)

Eficacia Clínica

1. Infarto al Moocardio Transmural. El

5 infarto al miocardio transmural, definido como la aparición una nueva onda Q en ECG de 12 terminales y el nivel CK-MB. Post-operativo, gtoreq.50 1.U., ocurrió en 5 pacientes en el grupo placebo, en 2 de los pacientes que reciben AICA ribósido de baja dosis, y en 2 de los

10 paciente de alta dosis (Tabla 5). Diferencias entre los grupos no fueron estadísticamente significantes por la prueba exacta de Fisher, ni hubo significancia lograda cuando los dos grupos de tratamiento combinados se compararon con placebo (p=0.15). Sin embargo, en vista

15 del número pequeño de sujetos por grupo, estos resultados (64% de reducción en la frecuencia de infarto al

miocardio post-operativa) mostraron una tendencia a una disminución en MI transmural con tratamiento de AICA ribósido.

TABLA 5

5

<u>NÚMERO DE PACIENTES EN CADA GRUPO DE TRATAMIENTO QUE DESARROLLA INFARTO AL MIOCARDIO TRANSMURAL (NUEVA ONDA Q EN ECG DE 12 TERMINALES Y CKMB POST-OPERATIVO ≥ 50 I.U.)</u>				
	<u>0.05</u>	<u>0.10</u>	<u>Placebo</u>	
	<u>mg/kg/min</u>	<u>mg/kg/min</u>		
	Número de Pacientes			
	41	35	37	
Infarto	al 2 (4.9%)	0 (5.7%)	5 (13.5%)	p = 0.42
Miocardio				

Todos los infartos estuvieron presentes ya sea al llegar a la unidad de cuidados intensivos o en el día post-operativo 1. Uno de los pacientes que desarrolló infarto al miocardio (A39) también requirió una bomba de globo intra-aórtico para severa hipotensión al desprender de la bomba; con esta excepción, ninguno de los resultados se evalúa (CHF que requiere bomba de globo intra-aórtico o dispositivo de asistencia ventricular izquierdo, muerte cardíaca o arritmia que amenaza la vida) que ocurriera en ninguno de los tres grupos.

2. Infarto al Miocardio No-Transmural.

Elevación clínicamente significativa de niveles (CK-MB) en banda MB de creatinina fosfocinasa, ≥ 50 I.U., con o sin elevación de segmento S-T, con o sin aparición de nuevas ondas Q en ECG de 12 terminales, se observó en 17 (47%) pacientes de placebo, 13 (13.7%) pacientes que reciben AICA ribósido de baja dosis, y 8 (23.5%) en el grupo de alta dosis ($p=0.10$, X.sup.2 test) (Tabla 6). Para los grupos de tratamiento combinados contra placebo, el resultado fue estadísticamente significativo ($p=0.046$).

TABLA 6

<u>NÚMERO DE PACIENTES EN CADA GRUPO DE TRATAMIENTO CON</u>			
<u>INFARTO AL MIOCARDIO NO-TRANSMURAL (CKMB ≥ 50 I.U.)</u>			
	<u>0.05</u>	<u>0.01 mg/kg/min</u>	<u>Placebo</u>
	<u>mg/kg/min</u>		
	Número de Pacientes		
	41	35	37
CK-MB ≥ 50	13 (13.7%)	8 (23.5%)	17 (47%)

A través de todos los pacientes, hubo una tendencia hacia una reducción en niveles de CK total en los grupos tratados en comparación con placebo (Tabla 7a). Esta misma tendencia fue aparente en liberación de CK-MB (Tabla 7b).

TABLA 7a

<u>CAMBIOS PROMEDIOS CK-MB DE LÍNEA BASE (en U/L)</u>				
TIEMPO DE MUESTRA		0.05 mg/kg/min	0.1	PLACEBO
		(n = 41)	mg/kg/min (n = 35)	(n = 37)
LINEA BASE	PROMEDIO	0.2 +/- 0.1	0.1 +/- 0.1	0.2 +/- 0.1
ICU + 0		24.5 +/- 2.7	25.2 +/- 2.3	33.3 +/- 7.4
ICU + 8 HR		37.1 +/- 5.1	34.3 +/- 6.2	44.6 +/- 7.3
ICU + 16 HR		30.8 +/- 4.9	25.9 +/- 6.7	44.7 +/- 10.0
ICU + 32 HR		9.2 +/- 2.5	10.8 +/- 4.5	20.2 +/- 6.4
ICU + 40 HR		7.7 +/- 2.2	7.1 +/- 3.0	11.7 +/- 2.9
ICU + 48 HR		3.9 +/- 1.5	3.5 +/- 2.1	3.9 +/- 1.7
24 HR POST		23.5 +/- 5.0	21.1 +/- 5.3	39.7 +/- 11.3
ALTA MÉDICA		0.0 +/- 0.1	0.4 +/- 0.4	0.7 +/- 0.4

TABLA 7b

<u>CAMBIOS PROMEDIOS CK-MB DE LÍNEA BASE (en U/L)</u>				
TIEMPO DE MUESTRA		0.05 mg/kg/min	0.10	PLACEBO
		(n = 41)	mg/kg/min (n = 35)	(n = 37)
LINEA BASE	PROMEDIO	89.2 +/- 30.9	66.6 +/- 11.3	118.2 +/- 51.7
ICU + 0		346.2 +/- 45.3	386.1 +/- 51.8	323.3 +/- 46.8

ICU + 8 HR	839.2 +/- 89.3	869.6 +/-	965.6 +/-
		143.7	140.3
ICU + 16 HR	1040.6 +/-	891.0 +/-	1136.4 +/-
	120.3	148.3	136.2
ICU + 32 HR	874.7 +/-	894.0 +/-	1002.9 +/-
	126.3	142.9	143.9
ICU + 40 HR	806.6 +/-	641.7 +/-	794.0 +/-
	145.6	119.7	110.0
ICU + 48 HR	784.0 +/-	499.8 +/-	876.7 +/-
	149.9	100.5	202.4
24 HR POST	1028.1 +/-	1025.4 +/-	10226.7 +/-
	126.4	146.8	161.8
ALTA MÉDICA	87.8 +/- 46.6	31.9 +/- 22.0	34.1 +/- 69.0

3. Isquemia de Miocardio. Isquemia de miocardio se mide con ECG Holter y TEE continuo. ECG Holter continuo se realiza a partir del día antes de cirugía hasta el día post-operativo No. 2. Episodios ECG de isquemia se definieron en depresión S-T reversible 1 mm o mayor que dura 1 minuto o más. Datos TEE se registraron continuamente durante cirugía al nivel de músculos papilares medios del ventrículo izquierdo. El movimiento de pared de cada uno de los cuatro segmentos se gradúo de 0-4 (normal a disquinesia). Isquemia TEE fue definido por movimiento de pared regional que empeora

al menos 2 grados y dura 1 minuto o más. No hubo diferencia en la incidencia (por ciento de pacientes con isquemia) o severidad de isquemia ECG pre-operativa (línea base) en los grupos de placebo, baja dosis y alta dosis (18%, 14% y 14% de isquemia, respectivamente). En el periodo pre-puente, la incidencia de isquemia ECG fue similar en los grupos de placebo, baja dosis y alta dosis (0%, 3% y 3%, respectivamente). La incidencia de isquemia TEE tendió a ser menor en el grupo de alta dosis (6%) contra placebo (19%) y baja dosis (15%), $p=0.22$. En el periodo post-puente, la incidencia de isquemia TEE fue similar en los grupos de placebo, baja dosis y alta dosis (29%, 27% y 24% isquemia, respectivamente); $p=0.86$.

La incidencia de isquemia ECG tendió a ser menor en el grupo de alta dosis (11%), que en los grupos de placebo o baja dosis (18% y 22%, respectivamente), $p=0.42$. Como se ilustra en la Tabla 8, en aquellos pacientes que experimentan eventos de isquemia, la severidad de episodios de isquemia ECG post-puente fue menos severo en el grupo de alta dosis que en el de los grupos de baja dosis o placebo, juzgado por la duración promedio, área promedio bajo la curva S-T (AUC), en milímetro minutos (mm-min), y minutos isquémicos por hora (Isch min/h) supervisados.

TABLA 8

222

	Placebo	Baja Dosis	Alta Dosis	Valor-p
PROMEDIO	175 ± 156	125 ± 80	36 ± 20	0.04
Duración (min)				
AUC	-258 ± 317	-172 ± 144	-52 ± 28	0.24
promedio (min-min)				
Isch min/h	35 ± 14	40 ± 15	27 ± 20	0.22
supervisado				

Estos datos indican que AICA ribósido limita la extensión de isquemia miocardio post-quirúrgica en pacientes que se someten a cirugía CABG.

Dificultad en Separación de Puente

Como se notó, los pacientes se determinaron como difíciles de separar del Puente cardiopulmonar si requieren uno o más de las siguientes intervenciones: inserción de un marcapasos, regreso al puente, uso de bomba de globo o administración de vasopresores, u otra intervención que determina la investigación sea indicativa de dificultad en separación. No hubo diferencias significantes entre los grupos respecto a necesidad por marcapasos, regreso a puente o asistencia

223

de bomba de globo. Tanto el grupo de baja dosis como el grupo de alta dosis mostraron una fuerte tendencia hacia una necesidad reducida por soporte vasopresor ($p=0.19$). Ver Tabla 9a. Cuando una combinación de los grupos de alta y baja dosis se compare con placebo (Tabla 9b), la necesidad reducida por soporte vasopresor aproximó significancia estadística ($p=0.08$). Como resultado de la necesidad reducida por soporte vasopresor en los grupos tratados con alta y baja profármaco, combinado con una ligera reducción en la necesidad por otro soporte en estos pacientes, hubo una fuerte tendencia ($p=0.17$ cuando se compara por separado y $p=0.06$ cuando se combinan grupos de dosis con placebo) hacia una reducción en dificultad de separación en los grupos tratados con profármaco. No hubo diferencias en ninguna de los parámetros de dificultad de separación descritos anteriormente entre los grupos de alta y baja dosis (Tabla 9c).

Respecto al tiempo de separación como se mide como el tiempo de la separación de pensamiento transversal a terminación de puente, no hubo diferencias significantes estadística entre los grupos. Sin embargo, si solo pacientes que tuvieron dificultad en separar de puente (como se describe anteriormente) se evaluaron, hubo una fuerte tendencia hacia la reducción en el tiempo

que se ve en los pacientes tratados con la profármaco (Tabla 9d).

TABLA 9a

<u>DIFICULTAD DE SEPARACIÓN, POR TIPO DE DIFICULTAD</u>				
	0.05	0.10		
	<u>mg/kg/min</u>	<u>mg/kg/min</u>	<u>Placebo</u>	
Pacientes (n)				
	41	35	37	valor-p
Marcapasos	4 (9.8%)	4 (11.4%)	2 (5.1%)	0.7
Retorno a	0	0	1 (2.7%)	0.6
Puente				
Vasopresores	3 (7.3%)	4 (11.4%)	8 (21.6%)	0.19
Bomba de	0	0	1 (2.7%)	0.6
Globo				
Otros	3 (7.3%)	4 (11.4%)	5 (13.5%)	0.7

5

TABLA 9b

<u>DIFICULTAD DE SEPARACIÓN DE VASOPRESOR</u>		
<u>(0.05 + 0.1 mg/kg/min VS PLACEBO)</u>		
0.05 + 0.10	Placebo	Valor-p
Vasopresores	7 (9.2%)	8 (21.6%)
Requeridos		0.08

TABLA 9c

225

PACIENTES CON NINGUNA DIFICULTAD DE SEPARACIÓN			
<u>0.05</u>	<u>0.10</u>	<u>Placebo</u>	
Pacientes (n)			
41	35	37	Valor-p
7 (17%)	8 (23%)	13 (35%)	0.17
0.05 + 0.10		Placebo	
Pacientes (n)			
76		37	Valor-p
15 (19.7%)		13 (35.1%)	0.6

TABLA 9d

TIEMPO DE SEPARACIÓN			
	<u>0.05</u>	<u>0.1 mg/kg/min</u>	<u>Placebo</u>
	<u>mg/kg/min</u>		
	Pacientes (n)		
Grupo	41	34	36
Todos los Pacientes	20 +/- 2.2	17 +/- 1.8	23 +/- 2.9
Pacientes con Dificultad	20 +/- 4.6	20.8 +/- 4.2	31.8 +/- 6.3
Pacientes sin Dificultad	20.4 +/- 2.5	16.3 +/- 1.9	17.9 +/- 2.2

Eficacia Hemodinámica

Resultados de fracción de expulsión, medidos en

todos los pacientes en forma pre-operativa (por angiografía) y al tiempo de descarga de la unidad de cuidados intensivos (por ventriculografía de radionúclido) se dan en la Tabla 10 siguiente.

5

TABLA 10

Fracción de Expulsión (%) Medida antes (por Angiografía LV) y después (por Ventriculografía Radionúclido)				
Cirugía (p = ANOVA de 1 vía)				
Periodo	0.05	0.10	Placebo	
	mg/kg/min	mg/kg/min		
Pre-Puente	55.0 ± 2.3	58.4 ± 2.4	57.6 ± 2.0	p = 0.54
Post-Puente	59.0 ± 2.0	61.3 ± 1.7	56.5 ± 2.3	p = 0.28

10

En línea base, los grupos fueron razonablemente similares respecto a la fracción de expulsión. En forma post-operativa, aunque la diferencia no fue estadística significativa, los grupos de AICA ribósido tuvieron fracciones de expulsión promedio superiores post-puente que el grupo de placebo.

Farmacocinéticas

15

La Tabla 11 a continuación da las concentraciones de AICA ribósido en plasma promedio en pre-puente, post-puente, fin de infusión y 60 minutos

posterior a infusión para 40 pacientes que reciben 0.05 mg/kg/min y 31 pacientes a la dosis de 0.1 mg/kg/min. Los datos también se presentan gráficamente en la Figura 18.

5

TABLA 11

Concentraciones de AICA ribósico en plasma promedio (±SEM) (μg/ml) durante y después de infusión constante de 0.05 (n = 40) o 0.10 mg/kg/min (n = 31) de AICA ribósido a pacientes que se someten a cirugía CABG		
Tiempo de Muestra	0.05 mg/kg/min	0.10 in/kg/min
Pre-Puente	2.66 ± 0.30	5.11 ± 0.20
Post-Puente	2.49 ± 0.13	5.47 ± 0.19
Fin de Infusión	1.83 ± 0.13	3.67 ± 0.30
1 Hora Post-Infusión	0.32 ± 0.63	0.45 ± 0.30

10

15

Concentraciones en plasma de estado estable deseada de 2.5 y 5.0 μ/ml para baja y alta dosis, respectivamente, se aproximaron cercanamente en los tiempos de pre- y post-puente, indicando buena proporcionalidad de dosis. Estimados promedios de separación de plasma total (CL_p) fueron aproximadamente iguales para las dosis alta y baja en ambos de estos tiempos aproximándose a 1.2 L/hr/kg (rango 1.1 a 1.2 L/hr/kg). Esto indica que AICA ribósido exhibe cinética

lineal en pacientes que se someten a cirugía CABG a las velocidades de infusión empleadas en este estudio. Estas velocidades de liberación son aproximadamente 40-50% de aquellas previamente vistas en sujetos masculinos sanos conscientes. Dixon, R., et al., J. Clin. Pharm. 31:342-347 (1991). Mientras que el solicitante no desea estar ligado por ninguna teoría particular, esta diferencia en liberación de la profármaco puede ser una consecuencia de metabolismo reducido debido a hipotermia, captación de tejido disminuida, flujo de sangre en hígado reducido durante procedimiento CABG, o cambios en metabolismo asociados con infusión prolongada. Durante el periodo post-puente, hubo una tendencia para que aumentara Cl_p , el cambio coincide con aumento en la temperatura del cuerpo y flujo de sangre del hígado e interrupción de anestesia en este tiempo. Una vez que la infusión se terminó, las concentraciones de AICA ribósido en plasma disminuyeron rápidamente a 10% de los niveles de estado estable después de una hora.

Discusión

El infarto del miocardio peri operativo (MI) no es una complicación poco común de cirugía CABG, con incidencia reportada de 10 a 50 por ciento, dependiendo de los criterios empleados para el diagnóstico. Recientes estudios reportada un efecto adverso de MI peri operativo

en la proporción de mortalidad inmediata, supervivencia a largo plazo o ambos (ver H. Schaff, et al., J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 88:972-981 (1984); P. VaI. et al., J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 86:878-886 (1983); W. Fennell et al., J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 78:244-253 (1979); R. Seitelberger, et al., Circulation 83:460-468 (1991).

El presente estudio muestra que el AICA ribósido protege contra los efectos adversos de isquémica de tejidos, evita necrosis de células de miocardio irreversible y reduce la extensión de deterioro funcional cardíaco que resulta de daño isquémico cuando se suministra a través del periodo peri operativo incluyendo inmediatamente post-cirugía (reperfusión post operativa) y por mezcla con solución cardiopléjica.

Los resultados de los experimentos aquí descritos indican una tendencia hacia una menor incidencia de MI transmural, evaluado utilizando tanto nuevas ondas Q como cambios de encima en suero, entre placebo (13. 5%) y las dosis bajas y altas de AICA ribósido (4.9% y 5. 7% respectivamente). Ésta tendencia es aún más aparente en la reducción de MI no transmural, es decir niveles CK-MB mayores a 50 LU en la ausencia de cambios ECS (placebo 47. 2%, baja dosis 31. 7%, alta dosis 23.5%).

Aunque se vio una fuerte tendencia ($p=0.10$) a

reducción de Mis peri operativos cuando se compararon los tres grupos, estos resultados no alcanza a significancia. Sin embargo, cuando todos los pacientes tratados control (incluyendo los primeros cinco que reciben dosis superiores) se comparan con placebo, hay una reducción significativa estadísticamente ($p < 0.05$) en la velocidad de infarto peri operativo en el grupo tratado con profármaco.

El solicitante también ha mostrado que AICA ribósido altera la duración y severidad de eventos isquémicos. La duración promedio de eventos de isquemia post-puente en pacientes con placebo fue 175 minutos ($\pm .156$ minutes). El tratamiento con AICA ribósido resulta en una reducción a 125 minutos ($\pm .80$ minutes) en el grupo de baja dosis - acción de 36 minutos ($\pm .20$ minutes) en el grupo de alta dosis en la duración promedio de evento de isquemia post-puente ($p = 0.04$). Además, el número de minutos isquémicos post-puente por hora fue menor en el grupo de altavoces ($27 \pm .20$) que en el placebo ($35 \pm .14$) y en los grupos de baja dosis ($40 \pm .15$).

La severidad de isquemia post-puente también se redujo por administración de alta dosis de AICA ribósido. El área promedio bajo segmento S-T fue $35 \pm .14$ y $40 \pm .15$ en los pacientes de placebo y bajas dosis,

respectivamente, pero la administración de alta dosis resultan un valor de $27. \pm .20$.

AICA ribósido también parece tener un efecto en isquemia pre-puente, al menos en incidencia de TEE isquemia (6% para alta dosis contra 19% para placebo y 15% para baja dosis).

Los resultados de su estudio tormenta muestran mejorar la capacidad para desprender pacientes del puente. Pacientes que reciben AICA ribósido fue menos probable que recibieron asistencia vasopresor a fin de recuperar la función post-puente. Derecho, una mejora casi estadísticamente significativa se ve en el uso reducido de vasopresores en el grupo tratado con profármaco. Esto sugiere que los pacientes que reciben la profármaco están menos comprometidos que los pacientes en el grupo de placebo.

Cambios hemodinámicos son difíciles interpretar el ambiente de cirugías CABG; ritmo cardíaco y presión sanguínea en una gran medida se controlan por una variedad de agentes farmacológicos y ajustes de volumen y circulación, y no se vieron en estos parámetros efectos de tratamiento con AICA ribósido. Sin embargo una tendencia hacia una superior fracción de expulsión en el grupo de AICA ribósido de alta dosis inmediatamente antes de descarga de la unidad de cuidados

intensivos, en comparación con el grupo de placebo y de baja dosis. Esta mejora en desempeño cardíaco funcional será consistente con los efectos en el nivel de isquemia y la incidencia de infarto del miocardio.

5 Todos estos resultados muestran efectos benéficos de la administración de AICA ribósido, en especial en una dosis de aproximadamente 0.1 mg/kg/min. Cuando se combina con los aspectos de hiperuricemia y cistaluria asociados con administración de AICA ribósido
10 a una dosis de 0.19 mg/kg/min, y en especial a dosis de 0.38 mg/kg/min, estos resultados muestran que la dosis terapéutica particular de AICA ribósido es aproximadamente 0.1 mg/kg/min.

Conclusión

15 Aquellos con destreza ordinaria la técnica que revisan el ejemplo anterior reconocer ante los datos indican que la administración de AICA ribósido será segura y efectiva en las dosis descritas para evitar daños de tejidos que resulta de flujo de sangre
20 disminuido indeseado. Cuando se administra en las dosis descritas aquí, pueden evitarse hiperuricemia y/o cristaluria clínicas indeseadas mientras que se mantiene la efectividad.

EJEMPLO 2

25 EFECTOS DE AICA RIBÓSIDO EN PACIENTES QUE SE

SOMETEN A CIRUGÍA DE INJERTO DE PUENTE DE ARTERIA
CORONARIA (CABG): PRUEBAS CLINICAS FASE 3

Como los experimentos descritos en el ejemplo uno, los siguientes experimentos se realizaron para evaluar los efectos de AICA ribósido administrado a
5 pacientes que se someten a cirugía CABG y para determinar dosis efectivas y concentraciones de AICA ribósido. El solicitante descubrió concentraciones y dosis en las cuales AICA ribósido se compara efectivamente con placebo
10 para evitar resultados clínicos adversos, tales como eventos cardiovasculares adversos, incluyendo infarto del miocardio y muerte cardíaca. El solicitante también descubrió que AICA ribósido es efectivo en comparación con placebo para evitar eventos cerebro vasculares
15 adversos, tales como accidente cerebro vasculares. El solicitante también ha descubierto concentraciones y dosis de AICA ribósido que son particularmente efectivas para reducir la incidencia combinada de eventos cardiovasculares y cerebro vasculares adversos. Estas
20 concentraciones y dosis de AICA ribósido también se consideran efectivos para evitar por reducir las incidencias de falla cardíaca congestiva y dirritmia que amenaza la vida.

El estudio descrito en este Ejemplo 2 es un
25 estudio doble ciego, de control con placebo,

múlticentrado, revisaron aproximadamente 600 pacientes en 20 centros de los E.U.A. Pacientes que reciben el mismo régimen de dosis que se administro en el estudio descrito en el Ejemplo 1: ya sea placebo o uno de dos dosis de AICA ribósido (0.05 or 0.1 mg/kg/min por 7 horas). En todos los casos, AICA ribósido también se administra en una concentración 5μ g/ml en las soluciones de cardioplegia de pacientes que reciben tratamiento AICA ribósido.

El estudio descrito en este Ejemplo 2 difiere del estudio descrito en el Ejemplo 1 en los criterios de selección de paciente. El estudio descrito del Ejemplo 1 excluye pacientes que se consideran quirúrgica y médicamente con el más alto riesgo durante cirugía CABG, esto es pacientes CABG repetidos, emergencias y aquellos que tienen deficiente función ventricular izquierda. En los estudios descritos en esta Ejemplo 2, todos los pacientes que se someten a procedimiento CABG se consideran adecuados para entrarle estudio excepto porque pacientes con infartos al miocardio recientes o en evolución se excluyeron de manera tal que pudieran diagnosticarse nuevos infartos al miocardio. Además, en el Ejemplo 2 una selección más amplia de soluciones de cardioplajia se permite que reflejan patrones quirúrgicos típicos de uso.

La siguiente Tabla 12 ilustra un análisis estadístico de la incidencia de infarto al miocardio (como se define por niveles ECG y CK-MB, es decir., MI transmural) accidentes cerebro vascular, muerte cardíaca, falla cardíaca congestiva y disrritmia que amenazan la vida. En el Ejemplo uno, la baja dosis de AICA ribósido es 0.05 mg/kg/min Y the la dosis alta es 0.1 mg/kg/min.

TABLA 12

INCIDENCIA DE RESULTADOS CLÍNICOS				
	Placebo	Dosis Baja	Dosis Alta	Valor-p (dosis alta v- placebo)
Infarto al	10 (4.7%)	9 (4.4%)	3 (1.5%)	<0.05
Miocardio	n = 211	n = 205	n = 203	
Cerebro	9 (4.2%)	2 (0.9%)	1 (0.5%)	<0.05
vascular	n = 212	n = 214	n = 207	
Muerte	3 (1.4%)	5 (2.3%)	0 (0%)	NS*
Cardíaca	n = 212	n = 214	n = 207	
Falla	8 (3.8%)	6 (2.8%)	6 (2.9%)	NS*
Cardíaca	n = 212	n = 214	n = 207	
Congestiva				
Disrritmia	4 (1.9%)	9 (4.2%)	3 (1.4%)	NS
que amenaza	n = 212	n = 214	n = 207	

la vida

Resultados 29 (13.7%) 23 (10.7%) 11 (5.3%) <0.05

Clínicos n = 212 n = 214 n = 207

Combinados

* No estadísticamente significativa.

Los datos MI mostrados en la Tabla 12 reflejan diagnóstico tanto por ECG como CK-MB. Esto es, aquellos pacientes que mostraron ya sea indicación ECG de MI o CK-MB indicación de MI (pero no ambos) son excluidos. La presencia de una nueva onda Q (Minnesota código 1) se utiliza para clasificar MI en prueba ECG. Diagnóstico CK-MB de MI se realizó si al menos uno de los siguientes criterios se cumplió:

1. Elevación de concentración CK-MB a ≥ 100 ng/ml en cualquier tiempo posterior a cirugía y con la muestra CK-MB precedente o siguiente $\geq 50\%$ de este valor pico;

2. Elevación de concentración CK-MB a ≥ 70 ng/ml en cualquier tiempo después de 12 horas posterior a cirugía y con la muestra CK-MB precedente o siguiente $\geq 50\%$ de este valor pico; o

3. Una nueva elevación de liberación CK-MB, más de 24 horas después de cirugía a un pico de ≥ 12 ng/ml con otra medida de al menos 10 ng/ml inmediatamente precedente o siguiente al pico. Si niveles IfCK-MB, se

elevaron previamente, los niveles deben haber caído por debajo de 10 ng/ml antes del inicio de esta segunda elevación.

Diagnóstico de accidentes cerebro vascular
5 (CVA) se determina por signos y/o síntomas de déficit neurológico significativo que persisten por más de 24 horas. CVAs se considera puntos extremos del estudio si hubiera lesiones neurológicas focales que duran más de 24 horas. Pacientes con lesiones no focales se consideran
10 conjuntos extremos sólo si un consultor neurológico diagnostica CVA o si se reporta una exploración CT o MRI consistente con un nuevo infarto al cerebro o hemorragia.

Muerte cardíaca se define como muerte del paciente de una causa cardíaca primaria, por ejemplo
15 infarto del miocardio, disrritmia o disfunción ventricular. Todas las muertes se revisan por un grupo de tres cardiólogos independientes que carecen del conocimiento del grupo tratamiento.

Diagnóstico de falla cardíaca congestiva (CHF)
20 se realiza ya sea: 1) severo empeoramiento de funciones ventricular es izquierdas que requieren una bomba del globo intra aórtico por el dispositivo de asistencia de ventrículo izquierdo para $CI < 1.5 \text{ l/min/m.sup.2}$; o (2) choque cariogenico con $CI < 1.5 \text{ l/min/m.sup.2}$ y PCWP $> 20 \text{ cm}$
25 por > 1 hora.

Diagnóstico de disrritmia que amenazan la vida se amenaza ya sea: (1) disrritmia ventricular que requiere cardioversión; o (2) disrritmia que requiere inserción de un marcapasos requerido en alta médica del hospital.

Los resultados combinados de la Tabla 2 se muestran la incidencia de los siguientes eventos cardiovasculares adversos: MI combinado, CVA, muerte cardíaca, CHF y disrritmia que amenaza la vida. Parece haber una tendencia hacia una incidencia disminuida de eventos adversos tratados con baja dosis de AICA ribósido, sin embargo, la baja dosis parece no mostrar eficaces significante estadísticamente. De esta manera, los valores p mostrados en la Tabla 12 reflejan una comparación de alta dosis (0.1 mg/kg/min) contra placebo.

La Tabla 12 muestra una reducción de 61% en la incidencia de resultados combinados en el grupo de alta dosis en comparación con el grupo de placebo (5.3% en comparación con 13%) con un valor p de <0.05 .

Los datos indican una disminución del 68% en incidencia de MI en el grupo de alta dosis en comparación con el grupo placebo (1.5% en comparación con 4.7%), con un valor p < 0.05 , y una disminución del 88% en incidencia de accidente cerebro vascular en el grupo de alta dosis en comparación con el grupo placebo (0.5% en

comparación con cuatro. 2%) (valor $p < 0.05$). Los datos también muestran una fuerte tendencia hacia la disminución en muerte cardíaca (0 en comparación con 1.4%) en el grupo de alta dosis en comparación con el grupo de placebo con valor p no significativo.

Para resultados adversos acciones de falla cardíaca congestiva y disrritmia que amenaza la vida, parece haber una tendencia hacia incidencia disminuida en el grupo de alta dosis en comparación con el grupo placebo (CHF: 2.9% en comparación con 3.8%; a disrritmia: 1.4% comparación 1.9%).

La incidencia de todas las muertes tendió a ser menor en el grupo de alta dosis que el grupo de placebo (0.5% en el grupo de alta dosis en comparación con 3.3% en el grupo de placebo). La incidencia de infarto al miocardio como se determina por ECG o CK-MB tiende a ser menor en el grupo de alta dosis en comparación con el grupo placebo (20.8% en el grupo de alta dosis en comparación con 24.1% en el grupo placebo).

Las concentraciones de ácido úrico de todos los pacientes en el estudio supervisaron. Mientras que hay un incremento relacionado con dosis claro en concentraciones de ácido úrico en los pacientes tratados, las concentraciones de ácido úrico en plasma generalmente permanecieron en los cerca de el rango normal y no hubo

cristaluria significativa clínicamente (datos no mostrados).

La Tabla 13 a continuación ilustra la incidencia de resultados de infarto del miocardio y clínicos combinados (MI, CVA, muerte cardíaca, CHF disrritmia que amenaza la vida) de acuerdo con el nivel de plasma de AICA ribósido. Es aparente que de estos datos que el nivel de plasma más efectivos de AICA ribósido esté en el rango de 3-6 μ g/ml. Los datos en la Tabla 13 reflejan diagnóstico MI tanto por ECG como CK-MB (como se describió anteriormente respecto a la Tabla 12).

TABLA 13

INCIDENCIA DE MI Y RESULTADOS CLÍNICOS COMBINADOS POR
NIVEL DE AICA RIBÓSIDO EN PLASMA (μ g/ml)

Nivel de Plasma de AICA Ribósido	Infarto al Miocardio MI	Resultados Clínicos Combinados
<0.25	n = 209 9 (4.3%)	n = 211 29 (13.7%)
0.25-2.00	n = 83 2 (2.4%)	n = 89 9 (10.1%)
2.00-3.00	n = 114 5 (4.4%)	n = 116 11 (9.5%)
3.00-4.00	n = 44 1 (2.3%)	n = 44 3 (6.8%)

4.00-5.00	n = 61 0	n = 61 2 (3.3%)
5.00-6.00	n = 49 2 (4.1%)	n = 50 3 (6.0%)
>6.00	n = 44 1 (2.3%)	n = 46 4 (8.7%)

Otras modalidades

Otras modalidades están dentro de las siguientes reivindicaciones. En una modalidad preferida, el AICA reconocido (o profármaco) se liofiliza para evitar decoloración variable. Pro-profármacos también pueden emplearse, es decir aquellos que, cuando se introducen al cuerpo, su metabolismo las formas activas de AICA ribósido. El compuesto por-profármaco AICA ribósido comprende un AICA ribósido modificado y puede tener una porción AICA ribosilo si al menos una porción hidrocarbiloxicarbonilo. o hidrocarbilocarbonilo por peso equivalente de porción AICA ribosilo. Estas pro-profármacos de AICA ribósido comúnmente exhiben una o más de las siguientes mejoras frente a AICA ribósido, incluyendo: (1) efectos de liberación de adenosina más potentes; (2) vida media incrementada; (3) penetración del cerebro incrementado; (4) bio disponibilidad oral incrementada; (5) blanco al miocardio incrementado; y (6) en algunos casos, mejoras en eficacia frente al propio

AICA ribósido.

AICA ribósido y sus profármacos ("compuestos AICA ribósidos") puede administrarse en cualquier forma estándar utilizando amortiguadores farmacéuticamente
5 aceptables. Para suministrar compuestos AICA ribósido a pacientes, se anticipa que pueden ser administrados intravenosamente, por infusión intracoronaria o intraarterial, por inyección intramuscular directa, subcutáneamente, oralmente, tópicamente a la piel o
10 membranas de mucosas, rectalmente o por inhalación. Los compuestos AICA ribósido también pueden introducirse en la sangre del paciente en forma extracorpórea por ejemplo utilizando una máquina de corazón-pulmón o diálisis. Compuestos aceptables para uso farmacéutico son bien
15 conocidos.

De preferencia, los compuestos AICA ribósido se administran profilácticamente. Cuando estos compuestos están presentes en anticipación a un evento isquémico, la descomposición neta de ATP puede ser dirigida
20 benéficamente en gran medida a adenosina a en vez de inosina, y de esta manera evitar daño de tejido. Si se introduce una profármaco en un paciente para alcanzar una región isquémica durante o después de un evento que provoque isquemia, hay menos habilidad en dirigir ATP a
25 adenosina en este sitio debido que los depósitos ATP

objetivo se agotan en forma relativamente rápida. Con una profármaco presente como un agente profiláctico, también hay la posibilidad de que el proceso que se busca interrumpir sea frenado temprano lo suficiente para
5 evitar el evento o cualquier daño permanente.

Otros factores hacen importante el administrar la profármaco antes y/o durante un evento isquémico. Si la profármaco se administra después del bloqueo, es menos capaz de alcanzar el tejido involucrado debido a que hay
10 poco o nada de flujo de sangre a el área, a menos de que el área isquémica se haya sometido a reperusión correctiva tal como proadministración de tPA, angioplastia o cirugía de puente. También se considera que por ejemplo AICA ribósido se metaboliza en AICA
15 ribótido y que esta es una forma activa de la molécula. Este metabolismo es una reacción que requiere energía que utiliza ATP. Si ATP no está disponible debido a alta actividad metabólica y/o incrementada destrucción de ATP, entonces el AICA ribósido no puede hacerse en esta forma
20 activa.

Ejemplo 1

RECUPERACIÓN FUNCIONAL MEJORADA EN CORAZONES AISLADOS

La capacidad de una cantidad de análogos AICA ribósido preferidos para mejorar recuperación de función
25 cardíaca post-isquémica se examinó en un modelo de

corazón de rata aislado.

Corazones de rata aislados se canularon mediante la aorta ascendente y conectaron a un aparato de perfusión de acuerdo con el método de Langendorff. Los
5 corazones se sometieron a perfusión a presión constante de 100 cm de H₂O con un amortiguador Krebs-Henseleit modificado (pH 7.4) a 37 grados C. Como una medida de la función cardíaca, se supervisó continuamente la presión de desarrollo ventricular (LVDP= left ventricular
10 developed pressure). Después de equilibrio, los corazones por un periodo de 30 minutos, los corazones se sometieron a flujo reducido, es decir, isquemia, al reducir la presión a 10 cm de H₂O por 30 minutos. El flujo después se restaura al regresar la presión a su nivel original
15 (100 cm de H₂O) por 30 minutos más. Cada uno de los análogos AICA ribósido junto con el propio AICA ribósido por comparación se agrega al amortiguador de perfusión a una concentración final de 5 μ M o 20 μ M. Los resultados se ilustran en la tabla I.

20

TABLA I

Serie	Compuesto	conc.	Recuperación de	Valor P
	número	(μ M)	Función % Conc.	
			LVDP	Línea base
			(# de corazones)	

295

	Amortiguador	-	64.9 ± 0.7 (125)	-
	de Perfusión			
	control			
	(Post			
	Isquemia)			
	1 (1-110)	20	79.4 ± 1.3 (34)	.0001
		5	64.2 ± 1.5 (6)	NS ¹
I	10 (1-186)	20	84.5 ± 3.5 (2)	.0024
		5	83.7 ± 0.7 (6)	.0001
	11 (1-226)	20	85.7 ± 6.2 (3)	.0002
		5	77.2 ± 5.8 (7)	NS ¹
	16 (1-273) ²	5	83.1 ± 3.2 (5)	.0001
	23 (1-273)	1	79.0 ± 2.3 (6)	.0002
	25 (1-360)	5	86.8 ± 2.3 (6)	.0001
			72.4 ± 1.6 (6)	.0289
	37 (1-270)	5	71.9 ± 1.0 (5)	.0500
	29 (1-349)	1	76.7 ± 2.9 (7)	.0028
	40 (1392) ²	20	78.5 ± 3.7 (8)	<.005
	47 (1-450)	1	74.0 ± 2.8 (6)	.0045
	52 (1-467)	5	86.0 ± 2.5 (5)	.0001
	53 (1-468)	5	85.6 ± 1.8 (10)	.0001
	59 (1-506)	1	75.8 ± 2.2 (7)	.0001
	68 (1-538)	5	75.3 ± 2.2 (4)	.0033
	69 (1-549)	5	77.0 ± 2.8 (6)	.0002
	74 (1-572)	5	73.3 ± 3.3 (6)	.0012

II	27 (1-395)	5	74.6 $\pm$ 3.7 (7)	.0060
	67 (1-535)	5	77.4 $\pm$ 5.7 (3)	.0045
III	19 (1-154)	20	85.5 $\pm$ 1.7 (5)	.0001
	21 (1-227)	5	81.0 $\pm$ 3.2 (8)	.0001
		1	77.0 $\pm$ 4.4 (10)	.0007
	26 (1-332)	5	70.7 $\pm$ 4.1 (8)	.0466
	62 (1-510)	5	75.5 $\pm$ 2.3 (4)	.0049
	63 (1-517)	5	79.7 $\pm$ 4.8 (4)	.0001
	65 (1-522)	5	72.3 $\pm$ 5.6 (4)	.0410
	66 (1-531)	5	88.5 $\pm$ 1.8 (5)	.0001
	76 (1-578)	5	74.0 $\pm$ 2.5 (6)	.0016

¹NS = no significante

² Compuesto Conocido

Ejemplo 2

INHIBICIÓN DE CONTRACCIÓN EN ÍLEO AISLADO

5 La capacidad de los análogos de AICA ribósido preferidos para inhibir contracción estimulada de tiras de músculo del íleo aislado se ha comparado.

10 Segmentos (aproximadamente 1 cm) de músculo longitudinal se desprendieron del íleo del conejillo de indias, conectaron a transductores de fuerza isotónica y suspendieron en baños de tejido enchaquetados que contienen solución Krebs-Ringer aireada con 95% de O₂/5% de CO₂. Electrodo de platino paralelo se utilizan para suministrar corriente eléctrica a intervalos de 1 minuto

a un voltaje adecuado para inducir contracción del 90% máximo. Los compuestos de prueba se agregaron a los baños de tejido y las concentraciones que inhiben la contracción por 50%, (IC_{50}) se determina. Estos se detallan en la tabla II.

TABLA II

Serie	Compuesto número	Valor P
I	1 (1-110)	>1000
	11 (1-226)	200
	12 (1-232)	400
	23 (1-343)	3
	24 (1-354)	400
	25 (1-360)	20
	29 (1-349)	60
	35 (1-355)	60
	39 (1-390)	500
	41 (1-396)	100
	42 (1-431)	6
	44 (1-434)	20
	45 (1-438)	100
	47 (1-450)	10
	53 (1-468)	70
II	30 (1-388)	20
	27 (1-395)	500

	43 (1-432)	200
III	21 (1-227)	800
	26 (1-332)	200
IV	32 (1-262)	100

Ejemplo 3

EFFECTO DE ANÁLOGOS AICA RIBÓSIDO (SERIE I) EN EL MODELO DE ISQUEMIA DE CORAZÓN DE RATA.

Análogos AICA ribósidos sustituidos serie I(N-
5 4) se probaron por su capacidad para mejorar niveles de adenosina en tejido en corazones de rata isquémicos.

Ratas macho se inyectaron intraperitonealmente ya sea con análogo AICA ribósido, AICA ribósido o salino, como control. Después de 60 minutos los corazones se
10 cortaron e incubaron a 37 grados C por 60 minutos más. Extractos de tejido se prepararon y analizaron para adenosina pro cromatografía líquida con alto desempeño (HPLC). La capacidad de esta serie preferida de análogos AICA ribósido para incrementar niveles de adenosina en
15 tejido comparado con un AICA ribósido se ilustra en la tabla III. Una comparación más detallada de los efectos dependientes de dosis en niveles de adenosina en tejido de un análogo AICA ribósido selecto en esta serie preferida (compuesto número 10) comparado con AICA
20 ribósido (compuesto número 1) se ilustra en la Figura 19.

TABLA III

Compuesto Número	Niveles de Adenosina en Tejido (% Incremento contra Salino)
1 (1-110)	30
10 (1-186) (Exp. 1)	79
10 (1-186) (Exp. 1)	68
11 (1-226) (Exp. 1)	53
11 (1-226) (Exp. 1)	45
12 (1-232)	29
36 (1-207)	34

Ejemplo 4

INHIBICIÓN DE UTILIZACIÓN DE ADENOSINA PORANÁLOGOS AICA
5 RIBÓSIDO (SERIE I) EN CULTIVO CELULAR

Efectos de análogos AICA ribósidos substituidos
serie I (N-4) en utilización de adenosina se compararon
utilizando células endoteriales coronarias en cultivo. En
este ensayo, células endoteriales se incubaron con 5 μ M
10 o 50 μ M del compuesto de prueba junto con 1 μ M $>^3$ H
adenosina por 15 minutos. Inhibición de la utilización de
adenosina se determina al medir la concentración de
adenosina extracelular por conteo de destelleo seguido de
separación por cromatografía de capa delgada (TLC). Los
15 resultados de esta evaluación se ilustran en la tabla IV.

TABLA IV

Compuesto número	Inhibición de Adenosina, Utilización (%)	
	5 μ M	50 μ M
1 (1-110)	5 $\pm$ 2	10 $\pm$ 1
23 (1-343)	27 $\pm$ 4	63 $\pm$ 2
28 (1-348)	17 $\pm$ 3	47 $\pm$ 2
29 (1-349)	41 $\pm$ 11	67 $\pm$ 8
25 (1-360)	21 $\pm$ 1.7	56 $\pm$ 2
30 (1-388)	21 $\pm$ 1	49 $\pm$ 4
38 (1-351) ²	16 $\pm$ 1	44 $\pm$ 0
39 (1-390)	7 $\pm$ 4	29 $\pm$ 1
46 (1-445)	19 $\pm$ 4	30 $\pm$ 9
47 (1-450)	17 $\pm$ 3	19 $\pm$ 2
48 (1-452)	23 $\pm$ 3	25 $\pm$ 2
49 (1-453)	30 $\pm$ 4	33 $\pm$ 8
51 (1-466)	27 $\pm$ 2	65 $\pm$ 2
52 (1-467)	56 $\pm$ 2	71 $\pm$ 1
53 (1-468)	34 $\pm$ 4	58 $\pm$ 2
56 (1-487)	55 $\pm$ 7	65 $\pm$ 9
61 (1-509)	37 $\pm$ 28	72 $\pm$ 5
71 (1-562)	10 $\pm$ 3	31 $\pm$ 11
73 (1-566)	16 $\pm$ 0	33 $\pm$ 9
75 (1-577)	8 $\pm$ 0	30 $\pm$ 3

²compuesto conocido

Ejemplo 5

EFFECTO DE ANÁLOGOS AICA RIBÓSIDO (SERIES I) EN ENSAYO ³H-NBTI DE ENLACE.

5 La capacidad de análogos AICA ribósidos
substituidos serie I (N-4) selectos para efectuar el
enlace de 3H-nitrobenciltioinosina (NBTI) a membranas
celulares fue comparado. Concentraciones crecientes de
los compuestos de prueba se incubaron por 30 minutos con
10 0.5 mg de proteína membrana neuronal junto con >3H NBTI
en amortiguador Tris (pH 7.4) a temperatura ambiente. Los
ensayos se neutralizaron y las membranas se recolectaron
por rápida filtración. Filtros después se solubilizan y
determinan radioactividad por conteo de destelleo. La
15 concentración de cada compuesto de prueba que resulta en
50% de desplazamiento en 3H NBTI ligado, la ED₅₀ se
detalla en la tabla V.

TABLA V

Series	Compuesto número	ED ₅₀ (μM)
I	1 (1-110)	>1000
	10 (1-186)	350
	24 (1-354)	300
	35 (1-355)	190
	29 (1-349)	100

25 (1-360)	72
28 (1-348)	15
23 (1-343)	3
30 (1-388)	225
39 (1-390)	600
44 (1-434)	100
45 (1-445)	90
46 (1-445)	8
47 (1-450)	0.5
48 (1-452)	22
49 (1-453)	7
50 (1-459)	28
51 (1-466)	16
52 (1-467)	80

TABLA V (continuación)

Series	Compuesto número	ED ₅₀ (μ M)
	53 (1-468)	aproximadamente 100
I	55 (1-484)	60
	56 (1-487)	32
	57 (1-488)	80
	58 (1-489)	83
	59 (1-506)	2
	60 (1-508)	17
	61 (1-509)	32

	64 (1-519)	48
II	27 (1-395)	344
	43 (1-432)	71
III	54 (1-483)	28

Ejemplo 5A

INHIBICIÓN DE TRANSPORTE DE ADENOSINA EN
LINFOBLASTOS WI-L2

Inhibición de transporte de adenosina en
5 linfoblastos WI-L2 en la presencia de uno de los análogos
AICA ribósido de la presente invención, se determina de
acuerdo con el siguiente procedimiento.

Una alícuota de 200 μ l de suspensión de
células de linfoblastos WI-L2 (0.5×10^6) se formó en
10 capas sobre 100 μ l de una mezcla de aceite de silicona:
aceite mineral (8:2 en volumen). Compuesto número 53 (1-
468) a concentraciones de 5.0, 50.0 y 500.0 μ M,
respectivamente se agrega a las células y la mezcla de
resultante se incuba ya sea por 1 minuto o por 1 hora.
15 Después, 5 μ l de adenosina radioetiquetada
(concentración inicial 2.5 μ Ci de 1 μ M) se agrega a la
suspensión celular y la mezcla se incuba por 10 segundos.
Las células después se centrifugan por 15 segundos a
13,000 rpm y los precipitados celulares se miden por
20 radioactividad.

La Figura 22 ilustra inhibición de transporte

de adenosina con preincubación de 1 minuto con el compuesto número 53. (1-468) y la Figura 23 ilustra inhibición de transporte de adenosina con preincubación de 1 hora con el compuesto número 53. (1-468).

5

Ejemplo 6

EFFECTO DE UN ANÁLOGO AICA RIBÓSIDO (SERIE III)
EN LIBERACIÓN DE ADENOSINA DE CÉLULAS AISLADAS

Un análogo AICA ribósido substituido serie II (C-2) se compara con el propio AICA ribósido por su
10 habilidad para influenciar la liberación de adenosinas de células endoteriales coronarias. En este modelo experimental, las células se tratan con 50 μ l del compuesto de prueba e incuban por 16 horas a 37 grados C. Después se lavan células con salino amortiguado con
15 fosfato y re-suspenden en medio de cultivo estándar que no contiene glucosa (para inhibir glicólisis) antimicina A 50 μ l (para inhibir la fosforilación oxidativa) y deoxicoformicina 20 μ l (para inhibir la utilización de adenosina por adenosina diaminaza). Este tratamiento se
20 diseña para estimular condición esquémica al inducir la descomposición de ATP neto. Medio después se procesa por HPLC. Valores de adenosina se dan en la tabla VI.

TABLA VI

Compuesto Número	Niveles de	Incremento (%)
------------------	------------	----------------

55

Adenosina		
Extracelular (μM)		
Control	1.42 ± 0.17	---
1 (1-110)	1.64 ± 0.12	15.5
13 (1-240)	2.79 ± 0.19	96.5

Ejemplo 7

EFEECTO DE ANÁLOGOS AICA RIBÓSIDO (SERIES II) EN ACTIVIDAD DE ADENOSINA CINASA.

La inhibición de la actividad enzimática se determina utilizando una mezcla de ensayo 0.1 ml que contiene Tris maleato 50 mM, pH 7.0, 0.1% (w/v) BSA, 1 mM ATP, 1 mM MgCl_2 , 0.5 μM ^3H -adenosina (p/v) BSA, ATP 1 mM, MgCl_2 μM , ^{14}C adenosina 0.5 μM (500 mCi/mmol) y 0.1 μg de adenosina cinasa de corazón de cerdo purificada.

Diferentes concentraciones del compuesto de prueba se incubaron en la mezcla de ensayo por 20 minutos a 37 grados C. De cada mezcla de reacción, porciones de 20 μl se retiran y tiñen en trozos de 2 cm^2 de papel filtro Whatman DE81 . Los papeles después se lavan para retirar ^3H adenosina en formato de amonio 1mM seguido por agua desionizada y finalmente 95% etanol. Los papeles se secaron y ^{14}C AMP se miden por conteo de destelleo. Las actividades se determinan a partir de la cantidad de ^{14}C AMP formado.

Los resultados se ilustran en la tabla VII.

TABLA VII

Compuesto Número	IC ₅₀ (μM)
1 (1-110)	>5000
27 (1-395)	8
67 (1-535)	23
70 (1-551)	17

Ejemplo 8

EFECTO DE ANÁLOGOS AICA RIBÓSIDO (SERIES IV) EN
5 UTILIZACIÓN DE ADENOSINA EN CÉLULAS AISLADAS

Análogos AICA ribósido 2'-substituidos serie VI se probaron por su capacidad para inhibir utilización de adenosina en linfoblastos B humanos. En este ensayo, células B se pre-incubaron con el compuesto a prueba a
10 una concentración de 5 μM, 50 μM o 500 μM junto con >³H adenosina (1 μM) por un periodo de 10 minutos. La inhibición de el empleo de adenosina se determina de la configuración extracelular de >³H adenosina medido por
15 conteo de destelleo siguiendo la separación de los nucleósidos por TLC. Niveles de hipoxantina e inosina también se midieron. Los resultados de una comparación de 2'-O-metil (compuesto número 34) y 2'-O-etil (Compuesto número 34) y 2'-O-n-butíl (compuesto número 32) como
20 análogos de AICA ribósido comparado con AICA ribósido se ilustra en la Figura 20A.

Los efectos de estos análogos AICA ribósido en niveles de hipoxantina e inosina (ilustrados en las figuras 20B y 20C respectivamente) forman espejo de estos efectos en niveles de adenosina que sugieren una influencia aumentada en la utilización de adenosina mediada por inhibición de adenosina deaminasa. Esta interpretación se soporta por medición directa de la capacidad de los análogos para inhibir la adenosina deaminasa aislada.

Inhibición de actividad adenosina deaminasa se determina espectrofotométricamente utilizando 1 ml de mezcla de ensayo que contiene fosfato de potasio 50 mM, pH 7.0, alfa-cetoglutarato 1 mM, 15 unidades de dehidrogenasa glutámica, NADH 0.125, adenosina 80 μ M y 0.002 unidades de adenosina deaminasa de mucosa intestinal de ternero. Diferentes concentraciones compuestos de pruebas se incubaron en la mezcla de ensayo por 10 minutos a 37 grados C. La reacción se supervisó continuamente para oxidación de NADH a partir del cambio en absorbancia a 340 nm.

Los resultados se ilustran en la Tabla VIII

TABLA VIII

Compuesto Número	IC ₅₀ (μ M)
1. (1-110)	>5000

20 (1-188)	1400
34 (1-250)	510
32 (1-262)	175

Ejemplo 9

EFFECTO DE ANÁLOGOS AICA RIBÓSIDO EN INHIBICIÓN DE AGREGACIÓN DE PLAQUETAS EN SANGRE ENTERA HUMANA

La habilidad de análogos AICA ribósido preferidos para inhibir agregación de plaquetas se examinó en sangre entera humana. Sangre entera se tomó de donadores sanos y recolectó en 0.1 vol. De citrato de sodio para evitar coagulación. La agregación de plaquetas se mide por la técnica de impedancia utilizando un agregometro de sangre entera (Whole Blood Aggregometer). Los compuestos de prueba se incubaron en sangre entera por 10 minutos a 37 grados C. y 10 gM de adenosina se agregan 5 minutos antes de producir la agregación. La agregación se induce por adición de ADP (6-25 μ M), a la concentración mínima induciendo completa agregación en controles sin tratar.

Los resultados se ilustran en la Tabla IX.

TABLA IX

Serie	Compuesto número	ED ₅₀ (μ M)
	1 (1-110)	2700
I	4 (1-122)	200
	23 (1-343)	38

	28 (1-348)	180
	29 (1-349)	90
	51 (1-466)	193
	52 (1-467)	480
	53 (1-468)	150
	56 (1-487)	75
	59 (1-506)	70
	61 (1-509)	171
	71 (1-562)	40
	72 (1-563)	300
II	27 (1-395)	950
	43 (1-432)	620
III	32 (1-262)	350

Ejemplo 10

BIODISPONIBILIDAD ORAL MEJORADA Y VIDA MEDIA DE ANÁLOGOS AICA RIBÓSIDO

Ciertos Análogos AICA ribósido preferidos se
 5 evaluaron para biodisponibilidad oral mejorada en
 sabuesos adultos en ayunas. Análogos AICA ribósido se
 suministraron como un bolo 10 mg/kg IV mediante una vena
 de pata cefálica y como una solución 20 mg/kg
 administrada mediante un tubo estomacal. Sangre
 10 heparinizada y orina se recolectan a intervalo selecto
 durante 24 horas. Cada muestra se enfría, centrifuga a 4
 grados C y congela antes de análisis HPLC.

Los resultados se ilustran en la Tabla X.

TABLA X

Series	Compuesto número	iodisponibilidad Oral Absoluta %	vida media (horas)
	1 (1-110)	8 ± 4 (n = 7)	0.35
I	53 (1-468)	32 ± 11 (n = 2)	5.61
III	21 (1-227)	71 ± 13 (n = 2)	1.30

Ejemplo 11

5 BENEFICIOS FUNCIONALES DEL COMPUESTO NO. 53 (1-468) EN UN MODELO DE ANGINA ESTABLE PRE-CLÍNICO

El análogo AICA ribósido (1-468) se evalúa por su habilidad para evitar disfunción cardíaca acumulativa asociada con episodios repetidos de isquemia inducida por demanda. Perros macho anestesiados se instrumentaron para medir engrosamiento de paredes de miocardio regional durante acompasamiento atrial derecho en la presencia de una estenosis de la arteria descendente anterior izquierda. (Young & Mullane Am. J. Physiol, in press 10 (1991)). En la Tabla XI A, los efectos en el espesamiento de pared y presión arterial de 6 episodios repetidos de acompasamiento en animales tratados con una infusión IV continua de 50µ g/kg/min del compuesto de prueba administrado post-acompasamiento #1 se comparan 15 con animales de control tratados con salina. En la 20

5 Tabla XI B, el cambio en ritmo cardíaco y presión arterial promedio en el periodo de reposo post-acompasamiento se citan, demostrando que la conservación del espesor de pared ocurre en la ausencia de efectos hemodinámicas significantes.

TABLA XIA

% de ENGROSAMIENTO DE PARED NO ISQUÉMICA		
Acompasamiento	Salino (N = 9)	Compuesto número 53
#	(n = 6)	
1	41.6 ± 2.6	49.5 ± 6.5
I2	31.7 ± 4.6	46.7 ± 7.0
3	25.8 ± 5.6	54.2 ± 9.4*
4	18.5 ± 5.5	48.1 ± 7.6*
5	11.8 ± 5.6	47.5 ± 8.2*
6	12.4 ± 6.0	42.1 ± 7.0*

"P < 0.05 vs. salino

TABLA XIB

Periodo de reposo post-acompasamiento (cambio de línea base)							
Línea	1	2	3	4	5	6	
base							
Presión arterial promedio (mm de Hg)							
Salino	86 ± 2	0 ±	-2 ±	-1 ±	-3 ±	-2 ±	-2 ±
		1	2	2	2	2	2

Compuesto	86 ± 5	-1 ±	-2 ±	-8 ±	-7 ±	-8 ±	-7 ±
de Prueba		3	3	3	3	3	3
Ritmo cardíaco (latidos/minuto)							
Salino	113 ± 7	2 ±	4 ±	8 ±	9 ±	11 ±	13 ±
		2	3	3	4	5	5
Compuesto	143 ± 6	1 ±	-2 ±	-1 ±	2 ±	1 ±	2 ±
de Prueba		2	4	3	4	4	4

Ejemplo 12

EFFECTO DE ANÁLOGOS AICA RIBÓSIDO (SERIES I) EN UN MODELO DE DERRAME CEREBRAL EXPERIMENTAL

5 La capacidad de Análogos AICA ribósido substituidos Series I (N-4) para efectuar supervivencia de célula piramidal de hipocampo en un modelo de derrame cerebral de gerbo se evaluó. En esta prueba, gerbos mongoles macho se anestesiaron con 2-3% de halotano en N₂ O:O₂ y las arterias carótidas comunes expuestas. La isquemia se induce por oclusión bilateral de ambas arterias carótidas comunes por 5 minutos. Siete días después del insulto isquémico, se retiraron cerebros y procesaron por histología. Los datos presentados en la

10

15 Figura 21 muestran el efecto de pre-tratamiento de los gerbos con 500 mg/kg de análogos AICA ribósido (Compuestos Nos. 10 (1-186) o 11 (1-226)) o con salino, como un control.

EJEMPLO A

Preparación de 5-Armno-(2,3,5-tri-O-acetyl-beta-D-ribofuranosilo)imidazol-4-carboxamida (Compuesto No. 2 (1-111))

5 AICA ribósido (50 g) se disuelve en piridina (450 ml) y después se enfría en un baño de hielo. Anhídrido acético (80 ml) se agrega y el baño de hielo se retira. La mezcla de reacción se agita por 3 horas. TLC en gel de sílice eluyendo con 9:1 cloruro de metileno:metanol, mostró que se completa la reacción.
10 Metanol (5 ml) para neutralizar anhídrido acético sin reaccionar. Los solventes se retiran por evaporación con alto vacío (temperatura de baño menor a 40 grados C). El residuo se co-evapora con dimetilformamida (3X 150
15 ml). El residuo se cristaliza de etanol utilizando cristales de siembra. El rendimiento de triacetato 62 g de sólido blanco; punto de fusión 128 grados a 129 grados C.

RMN (DMSO-d₆) .delta, ppm 2.05-2.15 (2s, 9H, -
20 CH₃), 4.3 (broad s, 3H, 4'-CH, 5'-CH₂), 5.3 (m, 1H, 3'-CH) 5.55 (t, 1H, 2'-CH), 5.87 (d, 1H, 1'-CH), 5.9 (broad s, 2H, 5-NH₂), 6.7-6.9 (broad d, 2H, 4-NH₂), 7.4 (s, 1H, 2-CH).

La preparación de este compuesto también se
25 describen la Patente de los E.U.A. No. 3,450,693 otorgada

a K. Suzuki & I. Kumoshiro (1969); ver también Chem. Abs. 71: 816982 (1969).

Ejemplo B

Preparación de N₅-dimetilaminometileneamino-
5 beta-D-ribofuranosiloimidazol-4-carboxamida (Compuesto No. 7 (1-164))

Se disuelve 2',3',5'-tri-O-acetil AICA ribósido (10 g) en dimetilformamida (30 ml) y dimetilformamida dimetil acetal (20 ml). La mezcla de reacción se deja
10 que agite durante la noche. TLC en gel de sílice, eluyendo con 9:1 cloruro de metileno:metanol, mostró que la reacción se completa por ausencia del material de partida. El solvente se retira por evaporación con alto vacío (temperatura de baño menor a 40 grados C). El
15 residuo se disuelve en ciclohexilamina y agita durante la noche. El solvente se retira por evaporación bajo presión reducida y el residuo se cristalizó de etanol. Rendimiento fue 4.6 g de sólido blanco, punto de fusión 173 grados a 175 grados C.

20 RNM (MeOH-d₄), .delta, ppm 3.0-3.05 (2s, 6H, N(CH₃)₂), 3.75 (m, 2H, 5'-CH₂), 4.0 (g, 1H, 4'-CH), 4.2 (t, 1H, 3'-CH), 4.35 (t, 1H, 2'-CH), 5.8 (d, 1H, 1'-CH), 7.7 (s, 1H, 2-CH), 8.25 (s, 1H, 5- N=CH-N)

Ejemplo C

25 Preparación de 5-Amino-1-beta-D-

ribofuranosiloimidazol-4-N-(ciclopentil)carboxamida
(Compuesto No. 10 (1-186))

El procedimiento de la literatura de p.c
Srivastava, R. W. Mancuso, R. J. Rosseau and R. K.
5 Robins, J. Med. Chem. 17(11), 1207 (1977) se siguió para
sintetizar N-succinimidilo-5-amino-1-(2,3,5-tri-O-acetil-
.beta.-D-ribofuranosil)imidazol-4-carboxilato
"intermediario No. 4"). Intermediario No. 4 (3.9 g) se
disuelve en cloruro de metileno (60 ml). Ciclopentilamina
10 (0.8 ml) se agrega y la solución se agita durante la
noche. TLC en sílice, eluyendo con 9:1 cloruro de
metileno:metanol, mostró que la reacción se completa por
ausencia del material de partida. La mezcla de solventes
se extrae con solución de ácido clorhídrico al 5% (100
15 ml), solución de bicarbonato de sodio saturado (100 ml) y
agua (200 ml). La capa orgánica se seca sobre sulfato de
sodio y evapora bajo presión reducida para dar 3.1 g de
espuma amarilla. Los grupos acetilo se retiran al
disolver los 3.1 g de espuma en metanol (70 ml) y enfrían
20 en un baño de hielo. Hidróxido de amonio (60 ml) se
agrega y el baño de hielo se retira. Después de 21/2
horas de agitación, TLC en gel de sílice, eluyendo con
9:1 cloruro de metileno:metanol, mostró que todo el
material de partida se agotó. EL solvente se evapora
25 bajo presión reducida para dar un residuo que se purifica

en una columna de sílice, eluyendo con 9:1 y 6:1 cloruro de metileno:metanol. Fracciones que eran semejantes por TLC se recolectaron y evaporaron bajo presión reducida para dar 1.1 g de espuma blanca cristalizada a partir de metanol-etil acetato, punto de fusión 158 grados a 160
5 grados C.

RNM (DMSO- d_6), δ , ppm 1.4-1.9 (m, 8H, $-CH_2$ $-CH_2$ -), 3.6 (m, 2H, 5'- CH_2), 3.9 (d, 1H, NH-CH), 4.0-4.35 (m, 3H, 2',3',4'-CH), 5.15-5.4 (m, 3H, 2',3',5'-OH),
10 5.45 (d, 1H, 1'-CH), 5.9 (broad s, 2H, $-NH_2$), 7.1 (d, 1H, $-NH-$), 7.3 (s, 1H, 2-CH).

Ejemplo D

Preparación de 5-Amino-1-beta-D-ribofuranosilimidazol-4-N-(ciclopropil)carboxamida
15 (Compuesto No. 12 (1-232))

Este compuesto se prepara siguiendo el procedimiento escrito en el Ejemplo C excepto por ciclopropilamina (0.5 ml) se substituye por ciclopentilamina (0.8 ml). El rendimiento empieza con
20 6.2 g de intermediario No. 4 (el succinato éster) fue 2.3 g.

NMR (DMSO- d_6) δ , ppm 0.5 (m, 4H, CH.sub.2 $-CH$.sub.2) 2.7 (m, 1H, N-CH), 3.6 (m, 2H, 5'-CH.sub.2),
25 3.8-4.3 (m, 3H, 2',3',4'-CH), 5.15-5.4 (m, 3H, 2',3',5'-OH) 5.45 (d, 1H, 1'-CH), 5.9 (s, 2H, NH.sub.2), 7.2 (s,

1H, 2-CH) 7.4 (d, 1H, 4-NH).

Ejemplo E

Preparación de 5-Amino-1-beta-D-
riboruranosilimidazol-4-N-(bencil)carboxamida (Compuesto
5 No. 11 (1-226))

Inosina (10 g) se suspende en dimetilformamida
(100 ml) y dimetilformamidedibencilacetal (25 ml). La
mezcla resultante se agita a 70 grados C durante la
noche. TLC en sílice eluyendo con 6:1 cloruro de
10 metileno de metanol, mostró terminación de la reacción.
El solvente se retira por evaporación a presión reducida.
El resto se disuelve en hidróxido de amonio (130 ml). La
mezcla se agita durante la noche, después se evapora bajo
presión reducida. Etanol (80 ml) se agrega al residuo y
15 la mezcla resultante se calienta. El sólido se
recolecta por filtración. Rendimiento de 1-bencilinosina
fue 10.5 g que se caracteriza por RNM.

El intermediario, 1-bencilinosina (10.5 g), se
disuelve en etanol (1.0 L) y solución de hidróxido de
20 sodio de 3M (140 ml). Esta solución se refluja por 3
horas. TLC en sílice mostró que la reacción era
completa. El solvente se retira por evaporación bajo
presión reducida. El residuo se cromatografía en una
columna de gel de sílice, eluyendo con 6:1 cloruro de
25 metileno metanol. Se recolectan fracciones que fueron

similares por TLC y concentran hasta que aparecen los cristales. El rendimiento fue 7.4 g del compuesto anteriormente identificado como un sólido blanco, punto de fusión 178 grados a 179 grados C.

5 RMN (DMSO-d.sub.6) .delta, ppm 3.6 (m, 2H, 5'-CH₂) 3.85-4.35 (m, 3H, 2',1',3',4'-CH), 4.4 (d, 2H, N-CH₂2), 5.15-5.4 (m, 3H, 2',3',5'-OH), 5.5 (d, 1H, 1'-CH), 5.9 (broad s, 2H, 5-NH₂), 7.2-7.4 (m, 6H, 2-CH, C₂6 H₂5) 7.95 (t, 1H, NH). Ver también E. Shaw, J.A.C.S. 80: 3899
10 (1958).

Ejemplo F

Preparación de metil éster de ácido 5-Amino-1-.beta.-D-ribofuranosilimidazol-4-carboxílico (Compuesto No. 14 (1-260))

15 Ácido 5-amino-1-(2,3,5-tri-O-acetil-.beta.-D-ribofuranosil)-imidazol-4-carboxílico (3.85 g, 10 mmol) se disuelve en 40 ml tetrahidrofurano y enfría a 0 grados C. Un exceso de diazometano en éter se agrega y la mezcla se calienta a temperatura ambiente. Se agrega
20 ácido acético para destruir el exceso de diasometano y la mezcla se evapora a sequedad. El residuo se purifica por cromatografía en gel de sílice eluyendo con 7:3 etil acetato:hexano. Las fracciones de producto mayor juzgadas por cromatografía en capa de gel delgada de
25 sílice (TLC) utilizando el sistema anterior, se

combinaron y evaporaron para dar 1.2 g de una espuma blanca. Esta se disolvió en 40 ml de metanol que contiene 20 mg de metóxido de sodio y agita por 30 minutos. TLC de sílice eluyendo con 6:1 cloruro de metileno:metanol, no mostró material de partida restante y un nuevo punto de producto de movimiento más lento. La reacción se neutraliza con resina Dowex 50 (H⁺) y evapora para dar 0.64 g del producto deseado como una espuma blanca. IR (KBr): 1725 cm⁻¹ (-CO-OCH₃).

10 RMN (DMSO-d₆): δ , ppm, 3.65 (s, 3H, CH.sub.3), 3.8 (m, 3H, 4'-CH and 5'-CH .sub.2), 4.1 (m, IH, 3'-CH), 4.2 (m, IH, 2'-CH), 5.5 (d, IH, 1'-CH), 8.0 (s, IH, 2-CH).

Ejemplo G

15 Preparación de 5-Amino-5'-sulfamoil-1-.beta.-D-ribofuranosil-imidazol-4-carboxamida (Compuesto No. 15 (1-261))

A. Preparación de 5-Amino-2',3'-isopropiliden-1-.beta.-ribofuranosil-5-sulfamoilimidazol-4-
20 carboxamida

A una solución de 2',3'-isopropiliden-AICA-ribosida (2.98 g, 10 mmol) de N,N-dimetilformamida seca (25 ml), hidruro de sodio (300 mg, 80% dispersión en aceite) se agrega durante un periodo de 10 minutos. Después de desprendimiento de gas hidrógeno cesó, el
25

matraz se sumerge en un baño de hielo y la mezcla se agita por 30 minutos. Una solución de cloruro de sulfamoilo (1.3 g, 11 mmol) en tetrahidrofurano seco (20 ml) se agrega lentamente. TLC de la mezcla de reacción
 5 (gel de sílice, solvente 9:1 cloruro de metileno:metanol) indica la presencia de algo de material de partida. Adicionales 200 mg de cloruro de sulfamoilo en tetrahidrofurano (10 ml) se agregan y la mezcla resultante se agita por una hora. Metanol (1 ml) se
 10 agrega y el solvente se evapora con alto vacío. El residuo cromatografía sobre el gel de sílice, eluyendo con una mezcla de cloruro de metileno:metanol (9:1). Varias fracciones se recolectan. Fracciones que muestran patrones TLC idénticos se reúnen y evaporan a un producto
 15 vítreo. Rendimiento fue 1.5 g.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO-d_6) .delta, ppm, 1.25 and 1.55 (2s, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$), 4.1 (d, 2H, 5'-CH), 4.25-4.35 (m, 1H, 4'-CH), 4.8-4.9 and 5.1-5.2 (2m, 2H, 2'-CH and 3'-CH), 5.8 (d, 1H, 1'-CH), 5.9 (s, 2H, 5-NH₂), 6.65-
 20 6.95 (br. d, 2H, CONH₂), 7.35 (s, 1H, 2-CH), 7.7 (s, 2H, SO₂ NH). Los datos RMN cumplen con la estructura de 5-amino-2',3'-isopropiliden-1-.beta.-ribofuranosilo-5'-sulfamoiloimidazol-4-carboxamida. Este producto intermedio se utiliza en la siguiente etapa de desbloqueo
 25 sin mayor purificación o aislamiento.

B. Preparación de 5-Amino-5'-sulfamoiolo-1-
.beta.-D-ribofuranosilo-imidazol-4-carboxamida

(Compuesto No. 15 (1-261))

5 El compuesto de la preparación precedente se
disuelve en ácido fórmico al 60% (20 ml) y la solución
resultante se agita a temperatura ambiente por 48 horas.

El solvente se retira por evaporación al alto
vacío. El residuo se co-evapora con agua. El producto
10 se cristaliza a partir de etanol acuoso. El rendimiento
fue 1.0 g del producto anteriormente identificado, punto
de fusión 174 grados a 175 grados C.

$^1\text{H-NMR}$ (DMSO- d_6) .delta, ppm 3.9-4.3(m, 5H, 2'-
CH, 3'-CH, 4'-CH y 5'-CH₂), 5.4 y 5.5 (2d, 2H, 2'-OH y
15 3'-OH), 5.5 (d, 1H, 1'-CH), 5.8 (br.s, 2H, 5-NH₂), 6.6-
6.9 (br.d, 2H, CONH₂), 7.3 (s, 1H, 2-CH) y 7.6 (s, 2H, SO₂
NH₂).

Ejemplo H

Preparación de 5'-Amino-5'-deoxi-AICA-ribosida
20 (Compuesto No. 21 (1-227))

A. Preparación de 5'-Azido-5'-deoxi-AICA-
ribosida

Una mezcla de 5'-deoxi-5'-yodo-2',3'-
isopropiliden-AICA ribosida (8.0 g) (Ref: P. C.
25 Srivastava, A. R. Newman, T. R. Mathews, and R. K.

Robins, J. Med. Chem. 18 1237 (1975)), lithium azida (4.0 g), y N,N- dimetilformamida se calienta a 80 grados-90 grados C por 5 horas. La mezcla se evapora a sequedad y el residuo se cromatografía sobre columna de gel de sílice fluyendo con cloruro de metileno. Las fracciones
5 que contienen producto de rápido movimiento se reunieron y evaporaron para obtener 7.2 g de un producto que se somete a desbloqueo con ácido fórmico al 60% (100 ml) a temperatura ambiente por 48 horas. El exceso de ácido
10 fórmico se retira por evaporación al alto vacío. El residuo se co-evapora con agua (3X 25 ml) para obtener un producto semi-sólido. Este producto se cristaliza a partir de etanol acuoso. Rendimiento fue 5.0 g, del producto anteriormente identificado, punto de fusión 138
15 grados a 139 grados C ¹HNMR (DMSO-₆) .delta, ppm 3.55 (d, 2H, 5'-CH₂), 3.95 (br. s, 2H, 3'-CH y 4'-CH), 4.2-4.4 (m, 1H, 2'-CH), 5.35 y 5.50 (2d, 2H, 2'-OH y 3'-OH), 5.55 (d, 1H, 1'-CH), 5.75-5.9 (br. s, 2H, 5-NH₂), 6.6-6.9 (br. d, 2H, CONH₂) y 7.35 (s, 1H, 2-CH). IR (KBr) cm⁻¹ : 3400-3000
20 (br. NH₂, CONH₂, OH, etc.), 2150 (S, N₃) 1640 (CONH₂).

Una solución de 5'-azido-5'-deoxi-AICA-ribósido (800 mg) (el producto de la etapa (A)) en metanol (40 ml) se hidrogenó en un aparato Parr con paladio en carbón (5%) (100 mg) como el catalizador de hidrogenación a 2.81
25 kg/cm² (40 psi) por 60 minutos. El catalizador se retiró

por filtración de la mezcla de reacción a través de un cojín de celite. El filtrado claro se evaporó a sequedad. El producto se cristalizó a partir de etanol en ebullición. El rendimiento fue 650 mg del producto
 5 anteriormente identificado, punto de fusión 188 grados-
 189 grados C. ^1H -RMN (D_2O) δ , ppm, 2.7 (d, 2H, 5'-CH₂),
 3.8-4.4 (3m, 3H, 2'-CH, 3'-CH y 4'-CH), 5.4 (d, 1H, 1'-
 CH) y 7.3 (s, 1H, 2-CH). IR (KBr) cm^{-1} : 3500-3000 (br.
 OH, NH₂, CONH₂, etc.), 1640-1645 (br.s. CONH₂).

10

Ejemplo 1

Preparación de 5-amino-1-(2-O-metil- β -D-
 ribofuranosil)-imidazol-4-carboxamida (Compuesto No. 20
 (1-188)) y 5-amino-1-(3-O-metil- β -D-
 ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida (Compuesto No. 22
 15 (1-243))

15

5-Amino-1- β -D-ribofuranosilimidazol-4-
 carboxamida (5.2 g, 20 mmoles) se disuelve en 40 ml de
 dimetilformamida caliente y diluye con 70 ml de metanol
 que contiene 35 mg de cloruro de estaño (II) dihidrato.
 20 Una solución de 0.1 mol de diazometano en 200 ml de éter
 se agrega en porciones durante 45 minutos. Después de
 cada adición, 20 mg de cloruro de estaño (II) dihidrato
 se agregan. La mezcla resultante se filtra y evapora
 para dar un jarabe. El jarabe se disuelve en 25 ml de
 25 metanol y ante enfriamiento produce 5-amino-1-(2-O-metil-

β -D-ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida cristalina que se recolecta por filtración y seca. El rendimiento fue 1.2 g, punto de fusión 114 grados-117 grados C. ^1H RMN (DMSO- d_6) (para Compuesto 20): δ , ppm, 3.3 (s, 3H, CH_3), 3.6 (m, 2H, 5'- CH_2), 3.9 (m, 1H, 4'-CH), 4.1 (m, 1H, 2'-CH), 4.2 (m, 1H, 3'-CH), 5.2 (d, 1H, 3'-OH), 5.3 (t, 1H, 5'-OH), 5.6 (d, 1H, 1'-CH), 6.0 (br. s, 2H, 5- NH_2), 6.7 (br. d, 2H, 4- CONH_2), 7.3 (s, 1H, 2-CH).

El sobrenadante de la cristalización anterior se concentró y aplicó a una columna de 200 ml de gel de sílice. La columna se eluyó con 10:1 cloruro de metileno:metanol (1 L), 8:1 cloruro de metileno:metanol (500 ml) y 5:1 cloruro de metileno:metanol (500 ml). El eluato 5:1 contiene un producto mayor y se evapora y el residuo se disuelve en 10 ml de metanol. El enfriar, este da por resultado cristales que se recolectaron y secaron. El rendimiento fue 1.4 gramos. Por experimentos de intercambio y desacoplamiento RMN, el producto se mostró que es 5-amino-1-(3-O-metil- β -D-ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida. ^1H RMN (DMSO- d_6) (para el Compuesto 18): δ , ppm: 3.3 (s, 3H, CH_3), 3.6 (m, 2H, 5'- CH_2), 3.7 (m, 1H, 4'-CH), 4.0 (m, 1H, 3'-CH), 4.4 (m, 1H, 2'-CH), 5.3 (t, 1H, 5'-OH), 5.4 (2d, 2H, 2'-CH y 1'-CH), 5.9 (br. s, 2H, 5- NH_2), 6.7 (br. d, 2H, CO- NH_2), 7.7 (s, 1H, 2-CH). Ejemplo J

Preparación de 5-Amino-1- β -D-riboruranosil-imidazol-4-N->(4-nitrofenil)metilcarboxamida (Compuesto No. 23 (1-343))

N-Succinimidil-5-amino-1-(2,3,5-tri-O-acetil-
 5 β -D-ribofuranosil-imidazol-4-carboxilato³ (0.50 g),
 hidrocloreuro de 4-nitrobenzilamina (210 mg) y
 trietilamina (0.16 ml) se agitan en cloroformo (30 ml) a
 temperatura ambiente durante la noche. La solución se
 lava con solución de bicarbonato de sodio saturado y
 10 agua, después se evapora bajo presión reducida. La brea
 amarilla resultante se cromatografía en gel de sílice,
 eluyendo con 9:1 cloruro de metilen metanol. Las
 fracciones recolectadas se supervisan por TLC.
 Fracciones semejantes se combinan y concentran bajo
 15 presión reducida para dar por resultado una espuma
 amarilla (0.38 g). La espuma se disuelve en metanol (20
 ml) y solución en metóxido de sodio metanólica se agrega
 (0.3 ml de solución 0.25M). La solución se agita bajo
 atmósfera de argón por 15 min. TLC indica que la
 20 reacción se completa. La solución se neutraliza a pH 6
 con resina de intercambio de iones. La resina se filtra
 y la solución se concentra al alto vacío para dar una
 espuma amarilla (0.23 g). ³Srivastava, P. C, J. Med.
 Chem. 17: 1207 (1974).
 25 ¹H RMN (DMSO-d₆) δ , ppm, 3.6 (m, 2H, 5'-CH₂) 3.9-4.3 (m,

3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 4.5 (d, 2H, -CH₂ -C₆ H₄ -NO₂), 5.2-5.4 (br., 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.5 (d, 1H, 1'-CH), 6.10 (br. s, 2H, 5-NH₂, 7.3 (s, 1H, 2-CH), 7.4-8.2 (AB_q, 4H, -C₆ H₄ -NO₂), 8.3 (t, 1H, 4-CONH).

5 Ejemplo K

Preparación de 5-Amino-1- α -D-ribofuranosilimidazol-4-N->(3-clorofenil)metilcarboxamida (Compuesto No. 24 (1-354))

Este compuesto se prepara de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo J para el derivado 4-p-nitrobenzilo, substituyendo 2-clorobenzilamina por hidrocloreuro de 4-nitrobenzilamina, ¹H RMN (DMSO-d₆) δ , ppm, 3.6 (m, 2H, 5'-CH₂), 3.9-4.3 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 4.4 (d, 2H, -CH₂-O-Cl), 5.1-5.4 (br., 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.5 (d, 1H, 1'-CH), 6.0 (br. s., 2H, 5-NH₂), 7.2-7.4 (m, 4H, -C₆ H₄-Cl), 8.0 (t, 1H, 4-CONH).

Ejemplo L

Preparación de 5-amino-1- β -D-ribofuranosilimidazol-4-N->(2,4-diclorofenil)metilcarboxamida (Compuesto No. 25 (1-360))

Este compuesto se prepara de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo J para el derivado 4-p-nitrobenzilo, substituyendo 2,4-diclorobenzilamina por hidrocloreuro 4-nitrobenzilamina, ¹H RMN (DMSO-d₆) δ , ppm, 3.6 (m, 2H, 5'-CH₂), 3.9-4.3 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH,

4'-CH), 4.4 (d, 2H, ~ CH₂-C₆ H₃ -Cl.sub..sub.2), 5.2-5.4 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.5 (d, 1H, 1'-CH), 6.0 (br. s, 2H, 5-NH₂), 7.2-7.6 (m, 3H, ~C₆ H₃ ~Cl₂), 8.1 (t, 1H, 4-CONH-).

5 Ejemplo M

Preparación de 5-amino-2-tio-1-β-D-ribofuranosil imidazol-4-carboxamida (Compuesto No. 27 (1-395-0))

A 10 ml de ácido fórmico con 80% se agrega 400 mg de 5-amino-2-tio-1-(2,3-O-isopropiliden-β-D-ribofuranosil)-imidazol-4-carboxamida.⁴ La mezcla resultante se agita por 1 hora a temperatura ambiente. TLC en sílice, eluyendo con 4:1 cloruro de metileno:metanol, mostró conversión del material de partida a un producto mayor. La mezcla se evapora a sequedad, disuelve en 5 ml de metanol y aplica a una columna de 50 ml de gel de sílice. La columna se eluye con cloruro de metileno:metanol (5:1). El producto mayor, como se determina por TLC, se recolectó y evapora a sequedad. El residuo se disuelve en 3 ml de metanol caliente y cristaliza al enfriar. El rendimiento fue 150 mg del producto anteriormente identificado, punto de fusión 205-208 grados C ⁴ Preparación descrito en T. Miyoshi, S. Suzaki, A. Yamazaki, Chem. Pharm. Bull., 24 (9): 2089-2093 (1976).

^1H RMN (DMSO- d_6), δ , ppm 3.6 (m, 2H, 5'-CH₂),
 3.8 (m, 1H, 4'-CH), 4.1 (m, 1H, 3'-CH), 4.5 (m, 1H, 2'-
 CH), 5.1 (d, 1H, 2' o 3'-OH), 5.2 (d, 1H, 2' o 3'-OH),
 5.7 (t, 1H, 5'-OH), 6.3 (d, 1H, 1'-CH), 6.4 (br. s, 2H,
 5 5-NH₂), 6.9 (br. s, 2H, 4-CONH₂), 11.1 (br. s, 1H, 5'-SH).

Ejemplo N

Preparación de 5-amino-1-(5-cloro-5-deoxi- β -D-
 ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida (Compuesto No. 26
 (1-332))

10 AICA ribósido (1.00 g), trifenilfosfina (3.05
 g) y tetracloruro de carbono (1.15 ml) se agitan en
 dimetil formamida (38 ml) a temperatura ambiente por 3
 horas. La solución se diluye con metanol (15 ml),
 después concentra bajo presión reducida. La brea
 15 amarilla resultante se cromatografía en gel de sílice,
 eluyendo con 4:1 cloruro de metileno:metanol. Las
 fracciones semejantes se combinan y concentran bajo
 presión reducida para dar una espuma púrpura. La
 presencia de óxido de trifenilfosfina, como se determina
 20 por ^1H RMN, requirió una segunda etapa cromatográfica
 como con anterioridad. El rendimiento fue 0.43 g de una
 espuma blanca.

^1H RMN (DMSO- d_6), δ , ppm 3.7-3.9 (m, 2H, 5'-
 CH.sub.2), 4.0-4.4 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.4-5.5
 25 (m, 2H, 2'-OH, 3'-OH), 5.6 (d, 1H, 1'-CH), 5.9 (br. s,

2H, 5-NH₂), 6.7-6.9 (br. d, 2H, 4- CONH₂), 7.3 (s, 1H, 2-CH).

Ejemplo O

Preparación de 5-amino-1-(2-O-etil- β -D-ribofuranosil)-4-imidazol carboxamida (Compuesto No. 34 (1-250)) y 5-amino-1-(3-O-etil- β -D-ribofuranosil)-4-imidazol carboxamida (Compuesto No. 31 (1- 251))

Una solución de aproximadamente 30 mmoles diazoetano en 40 ml de éter se prepara por adición lenta de 7 g (44 mmol) de 1-etil-3-nitro-1-nitrosoguanidina a una mezcla de 8 g de hidróxido de potasio, 9 ml agua y 60 ml de éter seguido por destilación. Esta se agregó lentamente a una solución de 3.2 g (12 mmoles) de 5-amino-1- β -D-ribofuranosilimidazol-4-carboxamida (AICA ribósido) en 35 ml de dimetilformamida que contiene 50 mg de cloruro de estaño (II) dihidrato. Durante la adición aproximadamente 20 ml de metanol se agregan para mantener la solubilidad. La reacción se filtra para retirar un precipitado en trazas y evapora a un jarabe amarillo. Cromatografía de capa delgada en gel de sílice utilizando cloruro de metileno/metanol (3:1) mostró una mancha de producto principal que se mueve más rápido que AICA ribósido. El jarabe se cromatografía en gel de sílice utilizando cloruro de metileno/metanol (8:1) recolectando el producto principal como se determina por TLC. Las

fracciones apropiadas se evaporan a una espuma blanca. Esto se disuelve en 7 ml de metanol. Al enfriar a 4 grados C, la mezcla se cristaliza para dar rendimiento de 160 mg de 5-amino-1-(2-O-etil- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-carboxamida (Compuesto No. 34 (1-250))
 5 confirmado por experimentos de intercambio y desacoplamiento de RMN.

^1H RMN (DMSO- d_6) (para el Compuesto No. 34) δ , ppm, 1.05 (t, 3H, CH_3), 3.3-3.6 (m, 4H, 2'- OCH_2 -, 5'- CH_2),
 10 3.9 (m, 1H, 4'-CH), 4.1-4.3 (m, 2H, 2'-CH, 3'-CH), 5.15 (d, 1H, 3-OH), 5.25 (t, 1H, 5'-OH), 5.55 (d, 1H, 1'-CH), 6.0 (br.s, 2H, 5- NH_2), 6.6-6.9 (br.d, 2H, 4- CONH_2), 7.3 (s, 1H, 7-CH).

El sobrenadante de la cristalización anterior se enfrió durante la noche a -12 grados C dando por
 15 resultado una segunda cosecha de cristales, 0.58 g, que por experimentos de intercambio y desacoplamiento de RMN se mostró que es primordialmente 5-amino-1-(3-O-etil- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-carboxamida (Compuesto No. 31
 20 (1-251)).

^1H RMN (DMSO- d_6) (para el Compuesto No. 31): δ , ppm, 1.1 (t, 3H, CH_3), 3.4-3.7 (m, 4H 3'- OCH_2 -, 5'- CH_2),
 3.85 (m, 1H, 4'-CH), 4.0 (m, 1H, 3'-CH) 4.4 (q, 1H, 2-CH), 5.25 (t, 1H, 5'-OH), 5.35 (d, 1H, 2'-OH), 5.45 (d,
 25 1H, 1'-CH), 5.9 (br.s, 2H, 5- NH_2), 6.6-6.9 (br.d, 2H, 4-

CONH₂), 7.3 (s, 1H, 1-CH). La impureza mayor se identificó como el isómero 2'-O-etilo.

Ejemplo P

Preparación de 5-amino-1-(2-O-n-butil- β -D-
5 ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida y 5-amino-1-(3-O-n-
butil- β -D-ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida
(Compuestos Nos. 32 (1-262) y 33 (1-263))

5-Amino-1- β -D-ribofuranosilimidazol-4-carboxa-
mida (2.50 g, 10.0 mmoles) y cloruro de estaño (II)
10 hidrato (35 mg) se disuelve en dimetilformamida (40 ml) y
metanol (30 ml). Una solución de 0.1 ml de diazobutano⁵
en 150 ml de éter se agrega en porciones. A la mitad de
la adición, se agrega más cloruro de estaño (II) hidrato
(35 mg). Se agrega metanol, según se requiera para
15 asegurar que el material de partida permaneció en
solución. La mezcla se agita por 1 hr, después concentra
bajo presión reducida para dar un aceite. Análisis del
aceite por ¹H RMN mostró primordialmente N-
butiletilcarbamato. El aceite se agitó con hexano y
20 decantó para retirar el N- butiletilcarbamato. La brea
resultante se cromatografió en gel de sílice utilizando
6:1 cloruro de metileno:metanol como solvente de elución.
Las fracciones apropiadas se combinaron y concentraron
bajo presión reducida para dar espuma rosa, ¹H RMN
25 análisis mostró una mezcla de 2' y 3' butil éteres.

Análisis HPLC mostró una mezcla de 56:28. El sólido se disuelve en isopropanol (2 ml) y enfría. El sólido resultante filtra y seca para dar 63 mg. Análisis HPLC
 5 intercambio de desacoplamiento mostraron el producto principal que es 2'-O-n-butil éter.

⁵ Diazobutano se prepara por tratamiento de 16.5 g de N-nitroso-N-n-butylmetano >Wilds, A. L. and Meeder, A. L., SOC 13 (1948), en etil éter (100 ml) con hidróxido
 10 de potasio (55 g) en agua (60 ml). El diazobutano etéreo se emplea sin destilación.

¹H RMN (DMSO-d₆) (para el Compuesto No. 32): δ, ppm, 0.8-1.5 (m, 7H, -CH₂ CH₂ CH₃), 3.3-4.2 (m, 7H, 2'-OCH₂-, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH, 5'-CH₂), 5.1 (d, 1H, 3'-OH),
 15 5.3 (t, 1H, 5'-OH), 5.6 (d, 1H, 1'-CH), 6.0 (br.s, 2H, 5-NH₂), 7.6-7.8 (br.d, 2N, 4-CONH₂), 7.3 (s, 1H, 2-CH).

El sobrenadante de la cristalización anterior se concentra bajo presión reducida para dar 125 mg de una espuma rosa. Análisis HPLC mostró una mezcla 14/71,
 20 experimentos de cambio y desacoplamiento ¹H RMN mostraron el producto principal que es 3'-O-n-butil éter.

¹H RMN (DMSO-d₆) (para el Compuesto No. 33): δ, ppm, 0.8-1.6 (m, 7H, -CH₂ CH₂ CH₃), 3.4-4.4 (m, 7H, 3'-OCH₂-, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH, 5'-CH₂), 5.2 (t, 1H, 5'-OH),
 25 5.3 (d, 1H, 2'-OH), 5.4 (d, 1H, 1'-CH), 5.9 (br.s, 2H, 5-

NH₂), 6.6-6.8 (br.d., 2H, 4-CONH₂), 7.3 (s, 1H, 7-CH).

Ejemplo O

Preparación de 5-amino-1- β -D-ribofuranosilimidazol-4-N->(3-nitrofenol)metilcarboxamida
5 (Compuesto No. 28 (1-348))

Este compuesto se prepara de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo J para el derivado 4-p-nitrobenzilo, substituyendo hidrocloreuro de 3-nitrobenzilamina por hidrocloreuro de 4-nitrobenzilamina.

10 ¹H RMN (DMSO-d₆) δ , ppm, 3.6 (m, 2H, 5'-CH₂), 3.9-4.3 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 4.4 (d, 2H, -CH₂ - NO₂), 5.2-5.4 (br., 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-O), 5.5 (d, 1H, 1'-CH), 6.0 (br.s., 2H, 5-NH₂), 7.4 (s, 1H, 7-CH), 7.6-8.2 (m, 4H, -C₆H₄Cl), 8.3 (t, 1H, 4-CONH).

15 Ejemplo R

Preparación de 5-amino-1- β -D-ribofuranosilimidazol-4-N->(4-clorofenil)metilcarboxamida
(Compuesto No. 29 (1-349))

20 Este compuesto se prepara de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo J para el derivado 4-p-nitrobenzilo, substituyendo 4-clorobenzen amida por hidrocloreuro de 4-nitrobenzilamina.

25 ¹H RMN (DMSO-d₆) δ , ppm, 3.6 (m, 2H, 5'-CH₂), 3.9-4.3 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 4.4 (d, 2H, -CH₂-C₆H₄-Cl), 5.2-5.4 (br., 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.5 (d,

1H, 1'-CH) 5.9 (br.s., 2H, 5-NH₂), 7.3-7.4 (m, 5H, -C₆ H₄ C₁), 7-CH), 8.1 (t, 1H, 4-CONH).

Ejemplo S

Preparación de 5-amino-1-β-D-
5 ribofuranosilimidazol-4-N-(4-metilfenil)metilcarboxamida
(Compuesto No. 30 (1-388))

Este compuesto se prepara de acuerdo con los
procedimientos descritos en el Ejemplo J para el derivado
4-p-nitrobenzilo, substituyendo 4-metilbenzilamina por
10 hidrocloreuro de 4-nitrobenzilamina.

¹H RMN (DMSO-d₆) δ, ppm, 2.2 (s, 3H, -C₆ H₄-
CH₃), 3.6 (m, 2H, 5'-CH₂), 3.9-4.3 (m, 5H, 2'-CH, 3'-CH,
4'-CH, -CH₂- -C₆ H₄ -CH₃), 5.2-5.4 (br., 3H, T-OH, 3'-OH,
5'-OH), 5.5 (d, 1H, 1'-CH), 5.9 (br.s., 2H, 5-NH₂, 7.1-
15 7.2 (M, 4H, -C₆ H₄ -CH₃), 7.3 (s, 1H, 7-CH), 7.9 (t, 1H,
4-CONH).

Ejemplo T

Preparación de 5-amino-1-.beta.-D-
20 ribofuranosil-imidazol-4-N-(3-clorofenil)metil-
carboxamida (Compuesto No. 35 (1-355))

Este compuesto se prepara de acuerdo con los
procedimientos descritos en el Ejemplo J para el derivado
4-p-nitrobenzilo, substituyendo 3-clorobenzilamina por el
hidrocloreuro 4-nitrobenzilamina.

25 ¹H RMN (DMSO-d₆) δ, ppm, 3.6 (m, 2H, 5'-CH₂),

3.9-4.3 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 4.3 (d, 2H, -CH₂ -C₆H₄ -Cl), 5.1-5.4 (br., 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.5 (d, 1H, 1'-CH), 6.0 (br.s., 2H, 5-NH₂), 7.2-7.4 (m, 4H, -C₆H₄ -Cl), 7.4(s, 1H, 7-CH), 8.1 (t, 1H, 4-CONH).

5 Ejemplo U

Preparación de 5-amino-4-(1-piperidinocarbamoil)-1- β -D-ribofuranosilimidazol
(Compuesto No. 36 (1-207))

Este compuesto en el Ejemplo J para el derivado
10 4-p-nitrobenzilo, substituyendo piperidina por
hidrocloruro de 4-nitrobenzilamina. El producto se
cristalizó a partir de etanol para dar el producto
anteriormente identificado, p.f. 190-192 grados C.

sup.¹ H RMN (DMSO-d₆) δ , ppm, 1.4-1.7 (M, GH,
15 3, 4, 5-CH₂ grupos de anillo de piperidina), 3.55 (m, 2H,
5'-CH₂), 3.8-3.95 (m, 5H, 2- y 6-CH₂ grupos de anillo de
piperidina y 4'-CH), 4.0-4.1 (m, 1H, 3'-CH), 4.25-4.35
(m, 7H, 2-CH) 5.15 (d, 1H, 2' o 3'-OH), 5.2 (t, 1H, 5'-
OH).

20 Ejemplo V

Preparación de 5-Amino-1- β -D-ribofuranosil-
imidazol-4-N->p-metoxibenzilcarboxamida
(Compuesto No. 39 (1-390))

Una mezcla del succinato éster activado (0.5 g)
25 (preparado de acuerdo con el Ejemplo J), 4-

metoxibenzilamina (0:15 ml) y cloruro de metileno (20 ml) se agita durante la noche. TLC indicó terminación de la reacción. El solvente se evapora y el residuo se cromatografía sobre una columna de gel de sílice corta
 5 utilizando una mezcla de cloruro de metileno:metanol (9:1). Las fracciones que contienen el producto se recolectan y evaporaron. El residuo así obtenido se disuelve en metanol (20 ml) y el pH se ajusta a aproximadamente 10 por adición de una solución de
 10 metóxido de sodio. Después de agitar la mezcla de reacción por 45 minutos a temperatura ambiente, la solución se neutraliza con resina Dowex 50 H⁺ (pH aproximadamente 6.0). La resina se separa por filtración, lava con metanol (2 x 2 ml). El filtrado
 15 combinado y los lavados se evaporan y el residuo se cristaliza a partir de etanol. Rendimiento fue 100 mg, con un p.f. de 187-188 grados C.

¹H RMN (DMSO-d₆): δ , ppm, 3.55 (m, 2H, 5'-CH₂), 3.7 (s, 3H, -OCH₃), 3.7- 4.1 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, y 4'-
 20 CH), 4.35-4.2 (dd, 2H, -CH₂ -N-), 5.1-5.4 (3,m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, y 5'- OH), 5.45(d, 1H, 1-CH), 5.9 (br. 2H, NH₂), 6.8-7.2 (m, 4H, fenil aromático), 7.3 (s, 17H, C₂ - H), y 7.85 (t, 1H, C-NH).

Ejemplo W

25 Preparación de hidrocloreuro de 5-Amino-1- β -D-

ribofuranosilimidazol-4-N(4-dimetilaminobenzil)-
carboxamida (Compuesto No. 41 (1-396-3))

A una suspensión de hidrocloreto de 4-dimetilaminobenzilamina (245 mg, 2 mmoles) en cloruro de metileno (25 ml), trietilamina (222 mg, 2 mmoles) se
5 agrega y la mezcla resultante agita por 45 minutos a la que se agrega el succinato éster activado preparado de acuerdo con el Ejemplo J (500 mg); la mezcla resultante se agita a temperatura ambiente durante la noche. TLC
10 indica terminación de la reacción. La mezcla de reacción se evapora y el residuo se cromatografía a través de una columna en gel de sílice corta utilizando una mezcla de cloruro de metileno-metanol (9:1). Fracciones que muestran el producto mayor se reúnen y evaporan a
15 sequedad. El residuo se disuelve en metanol (15 ml) y el pH se ajusta a aproximadamente 10 utilizando una solución de metóxido de sodio. Después de agitar a temperatura ambiente por 45 minutos, la solución se neutraliza con resina Dowex 50. La resina se separa por filtración y
20 lava con metanol (2 x 5 ml). El filtrado combinado y los lavados se evaporan a sequedad. El residuo que estaba en la forma de una espuma, se disuelve en etanol absoluto (10 ml). El pH de la solución se ajusta a aproximadamente 5 con una solución HCl etanólica. El
25 solvente se evapora a sequedad y el residuo se trata con

éter anhidro. El sólido amorfo que se separa se recolectó por filtración y lavó con éter (2 x 10 ml), y seca al alto vacío para dar 250 mg. El compuesto obtenido fue altamente higroscópico; no pudo obtenerse el punto de fusión.

^1H RMN (D_2O) δ , ppm, 3.05 (s, 6H, $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 3.6 (m, 2H, 5'-CH), 3.8-4.3 (3m, 3H, 2'-CH, 3'-CH y 4'-CH), 4.4 (s, 2H, CH_2 -N-), 5.5 (d, 1H, 1'-CH), 7.3-7.4 (m, 4H, fenilo), y 7.9 (s, 1H, 2-CH).

10 Ejemplo X

Preparación de (R)-5-Amino-1- β -D-ribofuranosilimidazol-4-N->2-hidroxi-2-(3,4-dihidroxi-fenil)etilcarboxamida (Compuesto 42 (1-431))

Este compuesto se prepara de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo J substituyendo (R)-norepinefrina por hidrocloreuro de 4-nitrobenzilamina y dimetilformamida en lugar de cloroformo como el solvente de reacción.

^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$): δ , ppm, 3.1-3.3 (m, 2H, $-\text{CH}_2$ - N), 3.5-3.6 (m, 2H, 5'- CH_2), 3.8-3.9 (m, 1H, 4'-CH) 4.0-4.1 (m, 1H, 3'-CH) 4.2-4.3 (m, 1H, 2'-CH), 4.4-4.5 (m, 1H, fenil-CH-OH), 5.2-5.2 (m, 1H, 2' o 3'-OH), 5.2-5.3 (t, 1H, 5'-OH) 5.3-5.4 (m, 1H, 2' o 3'-OH), 5.4-5.5 (d, 1H, 1'-CH), 5.9 (br. s, 2H, 5- NH_2), 6.5-6.8 (m, 3H₅ aril de catecol), 7.1 (t, 1H, 4-CONH), 7.3 (s, 1H, 2-CH), 7.2-

7.8 (br. s, 2H, catecol-OH).

Ejemplo Y

Preparación de S-Aminotiofenil-1-.beta.-D-
riboruranosilimidazol-carboxamida (Compuesto No. 43 (1-
5 432))

5-Amino-2-bromo-1-(2,3-O-isopropiliden- β -D-
ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida¹ (1.1 g), tiofenol
(1.3 g) y trietilamina (0.61 g) se refluja en una mezcla
de 25 ml de metanol y 3 ml de hidróxido de sodio IN por
10 18 horas. La mezcla de reacción se concentra y el
residuo se mezcla con 40 ml de cloruro de metileno. La
mezcla de cloruro de metileno se lava con agua y
bicarbonato de sodio saturado y seca sobre sulfato de
magnesio. El cloruro de metileno se evapora y el residuo
15 purifica por cromatografía en 200 ml de gel de sílice
utilizando una mezcla de cloruro de metileno y metanol
(95:5), dando por resultado 0.5 g de 5-amino-2- tiofenil-
1-(2,3-O-isopropiliden- β -D-ribofuranosil)-imidazol-4-
carboxamida. Tratamiento de este compuesto con ácido
20 fórmico al 80% por 3 horas a temperatura ambiente para
retirar el grupo isopropilideno seguido por evaporación y
purificación por cromatografía en gel de sílice
utilizando cloruro de metileno:metanol (9:1) dio por
resultado 250 mg del compuesto titular como una espuma
25 blanca.

¹ Miyosi T., Chem. Pharm. Bull. 24: 2089 (1976).

¹H RMN (DMSO-d₆) δ , ppm, 3.3-3.5 (m, 2H, 5'-CH₂), 3.8-3.9 (m, 1H, 4'-CH) 4.0- 4.1 (m, 1H, 3'-CH), 4.5 (q, 1H, 2'-CH) 5.1 (d, 1H, 2'- o 3' -OH), 5.3 (d, 1H, 2'- o 3' -OH), 5.7 (t, 1H, 5'-OH), 5.9 (d, 1H, 1'-CH) 7.5 (br. s, 2H, 4-NH₂), 6.7 y 7.1 (br s, 2H, CONH₂) 7.1-7.5 (m, 5H, fenilo).

Ejemplo Z

10 Preparación de 5-Amino-1- β -D-
ribofuranosilimidazol-4-N-(2-endo-norbornil)carboxamida)
(Compuesto No. 45 (1-438))

Una mezcla de (.+-.) hidrocloreuro de endo-2-aminonorbornano (240 mg), trietilamina (160 mg) y cloruro
15 de metileno se agita a temperatura ambiente por 45 minutos bajo argón. A esta se agrega succinato éster activado (Ver Ejemplo J) (750 mg) y agita durante la noche. TLC indicó terminación de la reacción. El solvente se evaporó y el residuo de cromatografía sobre
20 columna de gel de sílice utilizando una mezcla de cloruro de metileno-metanol (9:1). Fracciones que contienen el producto se reunieron y evaporaron. El residuo se disuelve en metanol (25 ml) y el pH se ajusta a aproximadamente 10 con una solución de metóxido de sodio.
25 Después de agitar por 45 minutos a temperatura ambiente,

la solución se neutraliza con resina H⁺ (pH aproximadamente 6). La resina se separa por filtración y lava con metanol. Los lavados combinados y el filtrado se evaporan y el residuo se mantiene con alto vacío para
 5 obtener un producto lustroso sólido. Rendimiento fue 280 mg.

¹H RMN (DMSO-d₆) δ, ppm, 1.1-2.4 (m, 10H₅ norbonil), 3.6 (br. M, 2H, 5'-CH₂), 3.9 (m, 1H, -N-CH), 4-4.4 (2 m, 3H, 2'-CH, 3'-CH y 4'-CH), 5.05 y 5.35 (2-d,
 10 2H, 2'-OH y 3'-OH), 5.25 (t, 1H, 5'-OH), 5.5 (d, 1H, 1'-CH), 5.9 (br. 2H, NH₂) 6.8 (d, 1H, -NH-CO), 7.25 (s, 1H, 2-CH).

Ejemplo AA

Preparación de 5-Amino-1-β-D-ribofuranosil-
 15 imidazol-4-N->(3-yodofenil)metilcarboxamida (Compuesto No. 44 (1-434))

Este compuesto se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo J para el derivado 4-p-nitrobenzilo, substituyendo hidrocloreuro de 3-
 20 yodobenzilamina por hidrocloreuro de 4-nitrobenzilamina.

¹H RMN (DMSO-d₅) δ, ppm, 3.6 (m, 2H, 5'-CH₂), 3.9-4.3 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 4.3 (d, 2H, -CH₂ -C₆H₄ -I), 5.2-5.4 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.5 (d, 1H, 1'-CH), 5.9 (br.s., 2H₅ 5-NH₂), 7.1-7.7 (m, 4H, -C₆H₄), 7.3 (s, 1H, 2-CH), 8.1 (t, 1H, 4-CONH-)
 25

Ejemplo AB

Preparación de 5-Amino-1-(5-yodo-5-deoxi- β -D-ribofuranosil)imidazol-4-N->(4-nitrofenil)metil-carboxamida (Compuesto No. 46(1-44))

5 El compuesto empleado en este procedimiento, 5-amino-1-(5-yodo-5-deoxi-2,3-isopropiliden- β -D-riboturanosil)imidazol-4-N->(4-nitrofenil)metil-carboxamida, se prepara por la misma secuencia de reacción (parando la etapa B) descrita en el Ejemplo AH para el Compuesto 53
10 (1-468), substituyendo la 4-N-p-nitrobenzilamida (Compuesto 23 (1-343)) por la 4-N-p-clorobenzilamida (Compuesto 29 (1-349)).

5-Amino-1-(5-yodo-5-deoxi-2,3-O-isopropiliden- β -D-ribofuranosil)imidazol-4-N->(4-nitrofenil)-metil-
15 carboxamida (200 mg) se disuelve en 10 ml de ácido fórmico al 80%. La solución se agita a 45 grados C por 2 horas. Los solventes se evaporan bajo presión reducida y el residuo resultante co-evapora dos veces con agua y dos veces con metanol. El residuo se cromatografía en gel de
20 sílice, utilizando 6/1 cloruro de metileno/metanol como solvente de elución. Las fracciones apropiadas se combinan y concentran bajo presión reducida para dar 60 mg del compuesto anteriormente identificado como una espuma amarilla.

25 ^1H RMN (DMSO- d_6) δ , ppm, 3.3-3.6 (m, 2H, 5'-

CH₂), 3.8-4.4 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH₄'-CH), 4.5 (d, 2H, CH₂-C₆H₄NO₂), 5.4-5.5 (m, 2H, 2'-OH, 3'-OH), 5.6 (d, 2H, 1'-CH), 5.9 (br.s., 2H, 5-NH₂), 7.4 (s, 1H, 2-CH), 7.5-8.2 (m, 4H, C₆H₄-NO₂, 8.3(4, 1H, 4-CONH-)).

5 Ejemplo AC

Preparación de p-nitrobenciltio éster de ácido S-amino-1-.beta.-D-ribofuranosilimidazol-carboxílico, (Compuesto No. 47 (1-450))

10 Ácido 5-Amino-1(2,3,5-tri-O-acetil-.beta.-D-ribofuranosil)irnidazol-4-carboxílico¹ (1.0 g) se disuelve en 8 ml de cloruro de tionilo bajo argón con agitación por 10 minutos. La mezcla se evapora al vacío y el residuo se disuelve en 15 ml de tetrahidrofurano que contiene 2.0 g de p-nitrobencil mercaptano. Trietilamina
15 (1.5 ml) se agrega y la mezcla se agita bajo argón por 20 minutos. La reacción se evapora a una goma y el residuo se mezcla con 50 ml de cloruro de metileno y lava con 2X25 ml de agua. La fase de cloruro de metileno se seca sobre sulfato de magnesio y evapora a un jarabe que se
20 purifica por cromatografía en gel de sílice utilizando una mezcla de etil acetato y cloruro de metileno (1:1) dando por resultado 500 mg de p-nitrobenciltio éster de ácido 5- amino-1-(2,3,5-tri-O-acetil-.beta.-D-ribofuranosil)imidazol-4-carboxílico. Tratamiento con
25 metóxido de sodio en 30 ml de metanol seco tal que se

mantiene un pH ligeramente básico hasta completar desacetilación (como se determina por cromatografía en capa delgada), seguido por neutralización con Dowex 50 (H+) y evaporación da por resultado el compuesto deseado contaminado con un producto que se supone es el metil éster. Purificación por cromatografía en sílice utilizando la mezcla de cloruro de metileno y metanol (9:1) dio 38 mg del compuesto deseado compuesto como una espuma amarilla.

10 .sup.1 Srivastava, P. C, J. Med. Chem. 17: 1207 (1974).

¹H RMN (DMSO-d.sub.6) .delta, ppm, 3.5-3.7 (m, 2H, 5'-CH.sub.2), 3.9-4.0 (m, 1H, 4'-CH), 4.2-4.4 (m, 2H, 2'- y 3'-CH), 5.2 (d, 1H, 2'- or 3'-OH), 5.3-5.5 (m, 2H, 5' y 2'- or 3'-OH), 5.6 (d, 1H, 1'-CH), 6.9 (br. s, 2H, 5-NH.sub.2), 7.4 (s, 1 h, 2-CH), 7.6 y 8.2 (d, 2H, fenil).

Ejemplo AD

Preparación de 5-Amino-1-.beta.-D-ribofuranosil-imidazol-4-N-indolinilcarboxamida
20 (Compuesto No. 48 (1-452))

Este compuesto se prepara de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo J para el derivado 4-p- nitrobencilo, sustituyendo indolina por el
25 hidrocloreuro 4-nitrobencilamina.

¹H RMN (DMSO-d.₆) .delta, ppm, 3.1 (t, 2H, indolinil-CH._{sub.2}), 3.6 (m, 2H, 5'-CH._{sub.2} - -), 5.2-5.4 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.5 (d, 1H, 1'-CH), 6.4 (br.s., 2H, 5-NH₂), 6.9-8.1 (aromáticos m, 4H, indolinilo), 7.4 (s, 1H, 2-CH).

Ejemplo AE

Preparación de (R)-5-Amino-1-.beta.-D-ribofuranosilimidazol 4-N->1-4-nitrofenil)etilcarboxamida (Compuesto No. 49(1-453))

Este compuesto se prepara de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo J para el 4- ρ -nitrobencilo, sustituyendo hidrocloreuro de (R)-4-nitro-.alpha.-metilbencilamina por hidrocloreuro 4-nitrobencilamina.

¹H RMN (DMSO-d.₆) .delta, ppm, 1.5 (d, 3H, .alpha.-metil en N4-bencil carboxamida), 3.6 (m, 2H, 5'-CH₂), 3.9-4.3 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.1 (m, 1H, protón metina en N4- bencilcarboxamida), 5.1-5.4 (m, 3H, 2'-OH 3'-OH, 5'-OH), 5.5 (d, 1H, 1'-CH), 7.3 (s, 1H, 2-CH), 7.6-8.2 (m, 4H₅ C₆ H₄ -NO₂), 8.0 (d, 1H, 4-CONH-).

Ejemplo AF

Preparación de (S)-5-Amino-1-.beta.-D-ribofuranosilimidazol-4-N->(4-nitrofenil)etil carboxamida (Compuesto No. 50(1-459))

Este compuesto se prepara de acuerdo con los

procedimientos descritos en el Ejemplo) para el derivado 4-p- nitrobencilo, sustituyendo hidrocloreuro de (S)-4-nitro- α -metilbencilamina por hidrocloreuro de 4-nitrobencilamina.

5 ^1H RMN(DMSO- d_6) δ , ppm, 1.5 (d, 3H, α -metil en N4-bencil carboxamida), 3.6 (m, 2H, 5-CH₂), 3.9-4.3 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.1 (m, 1H, protón metina en N4- bencilcarboxamida), 5.1-5.4 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.5 (d, 1H, 1'-CH¹ 5.9 (br.s., 2H, 10 5-NH₂), 7.4 (s, 1H, 2-CH), 7.6-8.2 (m, 4H, C₆ H₄ NO₂) 8.0 (d, 1H, 4-CONH-).

Ejemplo AG

Preparación de 5-Amino-1-(5-cloro-5-deoxi-
-beta.-D-ribofuranosil)imidazol-4-N->4-
15 nitrophenil)metiletilcarboxamida (Compuesto No. 51(1-466))

5-amino-1-.beta.-D-ribofuranosilimidazol-N->(4-nitrofenil)metilcarboxamida, Compuesto 23 (1- 343) (0.5 g), trifenilfosfina (1.00 g), tetracloruro de carbono
20 (0.37 ml), y THF (25 ml) se combinan y agitan a temperatura ambiente bajo argón, durante la noche. Se formó un precipitado blanco. Dimetilformamida (8 ml) se agrega y la solución se agita a temperatura ambiente, bajo argón, durante la noche. El solvente se evapora bajo
25 presión reducida y el aceite resultante co-evapora con

metanol (3X20 ml). EL aceite viscoso resultante se cromatografía en gel de sílice, utilizando 7:1 cloruro de metileno:metanol como solvente de elusión. Las fracciones apropiadas se combinaron y concentraron al vacío para dar una espuma amarilla (0.28 g). La espuma se cristaliza a partir de metanol frío para dar cristales amarillo (200 mg), mp=174-176 grados C.

^1H RMN (DMSO- d_6) .delta, ppm 3.7-3.9 (m, 2H, 5'-CH₂), 4.0-4.4 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 4.5 (d, 2H, -CH₂ -C₆ H₄ NO₂), 5.4-5.6 (m, 2H, 2'-OH, 3'-OH), 5.6 (d, 1H, 1'-CH), 5.9 (br.s., 2H, 5-NH₂), 7.4 (s, 1H, 2-CH), 7.5-8.2 (m, 4H, -C₆ H₄ NO₂), 8.3 (t, 1H, 4-CONH-).

Ejemplo AH

Preparación de 5-Amino-1-(5-azido-5-deoxi-.beta.-D-ribofuranosil)imidazol-4-N->(4-cloro fenil)metil carboxamida (Compuesto 52 (1-467)) e hidroccloruro de 5-Amino-1-(5-amino-5-deoxi-.beta.-D-ribofuranosil)imidazol-4-N->(4-cloro fenil)metil carboxamida (Compuesto No. 53 (1-468)).

A. Preparación de 5-Amino-1-(2,3-O-isopropiliden-.beta.-D-ribofuranosil)imidazol-4-N->(4-clorofenil)metilcarboxamida

Compuesto 29 (1-349), (6.8 g, 17.8 mmoles), se disuelve en una mezcla de 100 ml DMF, 15 ml acetona y 15 ml 2,2-dimetoxipropano. Gas cloruro de hidrógeno

(aproximadamanete 1.0 g) se agrega y la mezcla se agita bajo argón por 4 horas. La mezcla se vacía en 50 ml de bicarbonato de sodio saturado y evapora al vacío a 45 grados C. El residuo disuelto en una mezcla de 100 ml de etil acetato y 25 ml de agua. La fase acetato de etilo se separa y lava con 25 ml de agua, seca sobre sulfato de magnesio y concentra a una espuma. TLC (gel de sílice, 9:1 cloruro de metileno:metanol) mostró una impureza de movimiento significativo más rápido en el producto que se identifica como el cetel mixto 5'-(2-metoxipropano) del compuesto anteriormente identificado. Éste se convirtió en el compuesto anteriormente identificado al disolver la espuma en 100 ml de metanol y ajustar el pH a 2.5 con cloruro de hidrógeno etanólico. Después de 30 minutos la mezcla se neutraliza con bicarbonato de sodio saturado y concentra a un fango. Éste se disolvió en 100 ml de cloruro de metileno, lavó con 25 ml de agua. La fase de cloruro de metileno se seca sobre sulfato de magnesio y concentra a una espuma. El secado al vacío a 40 grados C por 18 horas dio por resultado 7.2 g (96%) del compuesto anteriormente identificado.

B. Preparación de 5-Amino-1-(5-iodo-5-deoxi-2,3-isopropiliden-.beta.-D-ribofuranosil)imidazol-4-N->(4-clorofenil)metilcarboxamida.

Una mezcla del producto de la Etapa A (25 g, 59

mmoles) y yoduro metiltrifenoxifosfonio (76 g, 166 mmoles) en 500 ml de cloruro de metileno se agita por 30 minutos a temperatura ambiente bajo argón. LA solución resultante se extrae con 150 ml de agua, 150 ml de tiosulfato de sodio al 5%, 150 ml de hidróxido de sodio 1N, 100 ml de agua y seca sobre sulfato de magnesio. El solvente se retira al vacío y el aceite resultante se aplica a una columna 1.3 l de gel de sílice grado evaporación instantánea preparada en 2:1 hexano:etil acetato. La columna se eluye con el mismo solvente para retirar impurezas, después 1:1 hexano:etil acetato se utiliza para eluir el producto deseado. Fracciones apropiadas se combinan y evaporan para dar 24.4 g del compuesto anteriormente identificado como un sólido gomoso. Fracciones impuras de nuevo se someten a cromatografía para dar 2.3 g adicionales del producto anteriormente identificado. Rendimiento total fue 26.7 g (85%).

C. Preparación de 5-amino-1-(5-azido-5-deoxi-2,3-O-isopropiliden-.beta.-D-ribofuranosil)irnidazol-4-N->(4-clorofenil)metilcarboxamida.

Una mezcla del producto de la Etapa B (26.7 g, 50 mmoles), azida de litio (14 g, 285 mmoles) y 100 mg de 18-corona-6 en 350 ml de DMF se agita 8 horas a temperatura ambiente bajo argón. El fango se concentra

para retirar solvente y el residuo disuelve en una mezcla de 500 ml de etil acetato y 100 ml de agua. La fase de acetato de etilo se separa, lava con agua y cloruro de sodio saturado, y después seca sobre sulfato de magnesio. La evaporación del solvente dio por resultado 25 g del compuesto anteriormente identificado como una goma amarilla que aún contiene solvente. Ésta se utiliza en la siguiente etapa sin mayor purificación.

D. Preparación de 5-Amino-1-(5-azido-5-deoxi-.beta.-D-ribofuranosil)imidazol-4-N->(4-clorofenil)metilcarboxamida. (Compuesto No. 52 (1-467))

El producto de la Etapa C, como se obtiene, se disuelve en 150 ml de 80% ácido trifluoracético y calienta a 50 grados C por 30 minutos. La solución se evapora a un jarabe a 40 grados C al vacío y el residuo evapora dos veces a partir de 25 ml de agua. El residuo tipo jarabe se disuelve en 100 ml de etil acetato y agita ligeramente sobre 100 ml de bicarbonato de sodio saturado. La cristalización empieza en la fase de etil acetato y después de una hora se recolectan cristales por filtración. Estos cristales se combinan con dos cosechas adicionales o cristales obtenidos por concentración de la fase de etil acetato para dar 15.7 g (77% rendimiento con base en el producto de Etapa B). Punto de fusión de una muestra analítica fue 182-183 grados C.

.sup.1 H NMR (DMSO-d₆) .delta, ppm, 3.6 (M, 2H, 5'-CH₂), 4.0-4.3 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 4.3 (d, 2H, -CH₂ C₆ H₄ Cl), 5.4-5.5 (m, 2H, 2'-OH, 3'-OH), 5.5 (d, 1H, 1'-CH), 5.9 (br.s., 2H, 5-NH₂), 7.3-7.4 (m, 4H, C₆ H₄ Cl), 7.4 (s, 1H, 2-CH), 8.1 (t, 1H, 4-CONH-). IR (KBr) cm⁻¹, 2110.

E. Preparación de 5-Amino-1-(5-amino-5-deoxi-.beta.-D-ribofuranosil)imidazol-4-N->(4-clorofenil)metilcarboxamida.

Compuesto 52 (1-467) (6.5 g, 159 mmoles) se disuelve en 500 ml de etanol en hirvición. Después de enfriar a 40 grados C, la solución se satura con argón y 0.5 g de paladio al 10% en carbón se agrega. La mezcla se agita bajo una atmósfera de hidrógeno por 8 horas. A mezcla se satura con argón y filtra a través de Celite 505 y concentra a un jarabe que se utiliza en la siguiente etapa sin mayor purificación.

F. Preparación de hidrocloreuro de 5-Amino-1-(5-amino-5-deoxi-.beta.-D-ribofuranosil)imidazol-4-N->(4-clorofenil)metilcarboxamida (Compuesto No. 53 (1-468)).

El producto de la Etapa E (teóricamente 159 mmoles) se disuelve en 100 ml de etanol y 3.5 ml de ácido clorhídrico 6N agregado (pH a papel pH húmeda aproximadamente 3). La solución se evapora a un jarabe. Este jarabe se disuelve en 50 ml de etanol caliente y

diluye con 150 ml de etil éter. EL precipitado gomoso resultante se agita sellado por 12 horas y el precipitado blanco resultante se recolecta por filtración y lava con éter. El secado al vacío a 40 grados C da por resultado
 5 6.0 g del compuesto anteriormente identificado (90% rendimiento con base en compuesto de la Etapa D).

.sup.1 H NMR (DMSO d₆) .delta, ppm, 3.0-3.2 (m, 2H, 5'-CH₂), 4.0-4.4 (M, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 4.4 (d, 2H, -CH₂-C₆H₄Cl), 5.8-6.2 (br., 2H, 2'-OH, 3'-OH),
 10 7.2-7.4 (m, 4H, C₆H₄Cl), 7.8 (s, 1H, 2-CH), 8.3 (br., 3H, NH₂.HCl).

Ejemplo AI

Preparación de hidrocloreuro de 5-Aminio-1-(5-amino-5-deoxi-.beta.-D-ribofuranosil)imidazol-4-N-
 15 (ciclopentil)carboxamida ((Compuesto No. 37) 1-270))

Este compuesto se prepara por la misma secuencia de reacción descrita en el Ejemplo AH para el Compuesto 53 (1-468), sustituyendo la 4-N-ciclopentilamida, Compuesto 10 (1-186), de la Tabla XII
 20 para el compuesto 4-N-p- clorobencilamida 29 (1-349) de la Tabla XII.

.sup.1 H NMR(DMSO-d₆) .delta, ppm, 1.4-1.9(m, 9H, protones ciclopentil alifáticos), 3.0-3.2 (m, 2H, 5'-CH₂), 4.0-4.3(m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.5(d, 1H, 1'-CH), 5.9(br.s, 2H, 5-NH₂), 7.1(d, 1H, A- CONH-),
 25

7.4 (8, 1H, 2-CH).

Ejemplo AJ

Preparación de 5-Amino-1-(5-deoxi-5-metiltio-
.beta.-D-ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida (Compuesto
5 No. 54 (1-483))

El intermediario, 5-amino-1-(5-cloro-5-deoxi-
.beta.-D-ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida, se prepara
de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo
AI para el compuesto 5¹ (1-466), sustituyendo 5-amino- 1-
10 .beta.-D-ribofuranosilimidazol-4-carboxamida por 5-amino-
1-.beta.-D-ribofuranosilimidazol-4-N->(4-
nitrofenilmethiücarboxamida.

A una solución de metanol/metóxido de sodio de
0.1 N a 0 grados bajo argón, se burbujea metil
15 mercaptano. A la solución de metanol/metiltiolato de
sodio 0.1 N To the resulting 0.1 N resultante se agrega
5-amino-1-(5-cloro-5-deoxi-.beta.-D-ribofuranosil)
imidazol-4-carboxamida (0.40 g). La solución se calienta
al reflujo durante la noche. La solución se enfría y
20 neutraliza con resina de intercambio de iones fuertemente
acídica Dowex 50. La mezcla se filtra y concentra bajo
presión reducida. El residuo resultante se cromatografía
en gel de sílice utilizando 4:1 cloruro de metileno
metanol como el solvente de elusión. Las fracciones
25 apropiadas se combinan, concentran bajo presión reducida

y secan al vacío para dar el compuesto anteriormente identificado como una espuma blanca (0.28 g).

.sup.1 H NMR (DMSO-d₆) .delta, ppm, 2.1(s, 3H, -S-CH₃), 3.7-3.9(m, 2H, 5'-CH₂), 3.9-4.4(m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.3-5.4 (m, 2H, 2'-OH, 3'-OH), 5.5(d, 1H, 1'-CH), 5.8(br.s., 2H, 5-NH₂), 6.6-6.9(br.m, 2H, 4-CONH₂), 7.3(s, 1H, 2-CH).

Ejemplo AK

Preparación de 5-Amino-1-.beta.-D-ribofuranosilimidazol-4-N-(4-bromofenil)carboxamida (Compuesto No. 55 (1-484)).

Ácido 5-Amino-1-(2,3,5-tri-O-acetil-.beta.-D-ribofuranosil)imidazol-4-carboxílico (Srivastava, P. C, et al., J. Med. Chem. 17 1207, (1974), (0.75 g) y cloruro de tionilo (7 ml) se agita a temperatura ambiente en un tubo de secado por 15 minutos. El exceso de cloruro de tionilo se evapora bajo presión reducida y el residuo resultante se co-evapora con cloruro de metileno (3X20 ml). La espuma amarilla resultante se disuelve en cloruro de metileno (40 ml) y 4-bromoanilina (0.35 g) se agrega. Trietilamina (aproximadamente 0.75 ml) se agrega hasta que la solución vira a básica. La solución se agita a temperatura ambiente bajo un tubo de secado por 2 horas. La solución se lava con agua, seca con sulfato de magnesio y concentra bajo presión reducida para dar una

espuma amarilla. La espuma se disuelve en metanol (35 ml). Una solución de metanol metóxido de sodio (aproximadamente 0.75 ml de una solución 0.5N) se agrega y la solución resultante se agita a temperatura ambiente en un tubo de secado por 30 minutos. La solución se neutraliza con Dowex 50 (resina intercambio de iones fuertementente acídica lavada con metanol). La mezcla se filtra y concentra bajo presión reducida para dar un residuo amarillo pálido. El residuo se cristaliza a partir de metanol (15 ml)/cloruro de metileno (10 ml) para dar cristales color tostado (0.23 g). Los cristales se recrystalizaron para dar cristales blancuzcos (90 mg). Mp: 214-216 grados C. (descomp).

.sup.1 H NMR (DMSO-d₆) .delta, ppm, 3.6(m, 2H, 5'-CH₂), 3.9-4.3 (m, 3H, 1'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.2-5.4(m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.5(d, 1H, 1'-CH), 6.2(br.s., 2H, 5-NH₂), 7.4-7.8 (m, 4H, - C₆ H₄ Br), 7.4(s, 1H, 2-CH), 9.5(s, 7H, 4-CONH).

Ejemplo AL

Preparación de 5-Amino-1-.beta.-D-ribofuranosil-imidazol-4-N->(4-bromofenil)metilcarboxamida (Compuesto No. 56 (1-487)).

Este compuesto se prepara de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo J para el derivado 4-p- nitrobencilo, sustituyendo hidrocloreuro de 4-

bromobencilamina por hidrocloreuro de 4-nitrobencilamina.

.sup.1 H NMR(DMSO-d₆) .delta, ppm, 3.5-3.6(m, 2H, 5'-CH₂), 3.9-4.3(m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 4.3 (d, 2H, CH₂ -C₆ H₄ Br), 5.1-5.4 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.5 (d, 1H, 1'-CH), 5.9(br.s, 2H, 5-NH.sub.2), 7.2-7.5(m, 4H, -C₆ H₄ Br), 7.3(s, 4H, 2-CH), 8.0(t, 1H, 4-CONH--).

Ejemplo AM

Preparación de 5-Amino -1-.beta.-D-ribofuranosil-imidazol-4-N-(4-iodofenil) carboxamida (Compuesto No. 57 (1-488))

Este compuesto se prepara de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo AK para el derivado 4-p- bromofenilo, sustituyendo 4-yodoanilina por 4-bromoanilina. El producto final se recristaliza a partir de etanol. Mp: 227-229 grados C. H NMR (DMSO-d₆) .delta, ppm, 3.5-3.6(m, 2H, 5'-CH₂), 3.9- 4.4(m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.2-5.4 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.5(d, 1H, 1'-CH), 6.2(br.s., 2H, 5- NH₂), 7.4(s, 1H, 2-CH), 7.6-7.7(m, 4H, -C₆ H₄ 1), 9.5(s, 1H, 4-CONH).

Ejemplo AN

Preparación de 5-Arnino-1-.beta.-D-riboruranosilimidazol-4-N-(4-nitrofenil)carboxarnido (Compuesto No. 58 (1-489))

Este compuesto se prepara de acuerdo con los

procedimientos descritos en el Ejemplo AK para el derivado 4-p-bromofenilo, sustituyendo 4-nitroanilina por 4-bromoanilina. El producto final se recristaliza a partir de metanol para dar un polvo amarillo.

5 .sup.1 H NMR (DMSO-d₆) .delta, ppm, 3.5-3.6(m, 2H, 5'-CH₂), 3.9-4.4(m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.2-5.4 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.6(d, 1H, 1'-CH), 6.4(br.s., 2H, 5-NH₂); 7.5(s, 1H, 2-CH), 8.1-8.3 (m, 4H, C₆ H₄ NO₂), 10.1(s, 1H, 4-CONH).

10 Ejemplo AO

Preparación de 5-Amino-1-.beta.-D-ribofuranosil-imidazol-4-N->2-(4-nitrofenil)etil carboxamida (Compuesto No. 59 (1-506))

15 Este compuesto se prepara de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo J para el derivado 4-p-nitrobencilo, sustituyendo hidrocloreto de 4-nitrofenetilamina por hidrocloreto de 4-nitrobencilamina.

20 .sup.1 H NMR (DMSO-d₆) .delta, ppm, 2.9-3.0(t, 2H, -CH₂ -C₂ H₄ -NO₂), 3.4-3.6 (m, 2H, 5'-CH₂), 3.9-4.3 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 4.8-5.4(br., 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.5(d, 1H, r-CH), 5.9-6.2(br., 2H, 5-NH₂), 7.5-8.2(m, 4H, -C₆ H₄ NO₂), 7.6(s, 1H, 2-CH), 7.7(t, 1H, 4-CONH).

Ejemplo AP

25 Preparación de 5-Amino-4->1->4-(4-nitrofenil)

piperazinocarbamoyl-1-.beta.-D-ribofurano silimidazol
(Compuesto No. 60 (1-508))

Este compuesto se prepara de acuerdo con los
procedimientos descritos en el Ejemplo J para el derivado
5 4-nitrobencilo, pero sustituyendo el hidrocloreuro de 1-
(4-nitrofenil)piperazina por hidrocloreuro de 4-
nitrobencilamina. El producto se recrystaliza a partir de
metanol frío y tuvo un p.f. de 199-200 grados C.

.sup.1 H NMR (DMSO-d₆) .delta, ppm, 3.4-3.6(m,
10 1OH, 3'-CH₂, piperazonil metilenes), 3.9-4.3(m, 3H, 2'-
CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.2-5.4(m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH),
5.5(d, 1H, 1'-CH), 6.3 (br.s., 2H, 5-NH₂), 7.0-8.1(m, 4H,
-C₆ H₄ NO₂), 7.3(s, 1H, 2-CH).

Ejemplo AQ

15 Preparación de 5-Amino-1-(5-deoxi-.beta.-D-
ribofuranosil)imidazol-4N->(4-clorofenil)metilcarboxamida
(Compuesto No. 61 (1-509))

5-Ainino-1-(5-iodo-5-deoxi-2,3-isopropiliden-
.beta.-D-ribofuranosil)imidazol-4-N->(4-
20 clorofenil)metilcarboxamida (ver procedimientos descritos
en el Ejemplo AH para la preparación de Compuesto 53 (1-
468), Etapa B) (0.64 g) se agita en 30 ml de ácido
fórmico al 50% durante la noche. El exceso de solvente se
evapora bajo presión reducida. El residuo resultante se
25 co-evapora con agua (25 ml) y metanol (25 ml). La espuma

amarilla resultante se cromatografía en gel de sílice utilizando 9:1 cloruro de metileno:metanol como solvente de elusión. Las fracciones apropiadas se combinan y concentran bajo presión reducida para dar 0.47 g de 5-amino-1-(5-yodo-5-deoxi-.beta.-D-ribofuranosil)imidazol-4-N->(4-clorofenil)metilcarboxamida.

5-Amino-1-(5-iodo-5-deoxi-.beta.-O-ribofuranosil)imidazol-4-N->(4-clorofenil)

metilcarboxamida (0.04 g), paladio en carbón 10% (20 mg), y etanol (20 ml) se cargan a una botella Parr. La botella y los contenidos se cargan con hidrógeno, a 3.16 kg/cm² (45 p.s.i.). El avance de la reacción se supervisa por HPLC (Aguas Cl 8, metanol al 55%/ácido acético 1.1 N al 45%, 260 nm, 1.0 ml/min). Después de 24 horas, hubo 34% de material de partida. Se agrega catalizador fresco (20 mg) y la mezcla vuelve a cargar con hidrógeno, 3.16 kg/cm² (45 p.s.i.). La mezcla se agita por 48 horas adicionales. La mezcla de reacción contiene 30% de material de partida. La mezcla se filtra a través de Celite y concentra bajo presión reducida. El residuo resultante se cromatografía en gel de sílice, utilizando etil acetato (400 ml) y metanol al 5% en etil acetato (200 ml) como el solvente de elusión. Las fracciones apropiadas se combinan y concentran bajo presión reducida para dar 70 mg de una espuma blanca. HPLC indica 9% de

material de partida. El material se re-cromatografía en gel de sílice, utilizando etil acetato como solvente de elusión. Todas las fracciones que contienen menos de 3% de material de partida se combinan y concentran bajo presión reducida para dar 36 mg del compuesto anteriormente identificado como una espuma rosa.

.sup.1 H NMR (DMSO-d₆) .delta, ppm, 1.2-1.3(d, 3H, 5'-CH₃), 3.7-4.3(m, 3H, 2'-CH, 3'-CH₂4'-CH), 4.3(d, 2H, CH₂-C₆H₄Cl), 5.1-5.4(m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 1'-CH), 5.8(br.s., 2H, 5-NH₂), 7.2-7.4(m, 5H, C₆H₄Cl, 2-CH), 8.1(t, 1H, 4-CONH).

Ejemplo AR

Preparación de 5-Amino-1-(5-deoxi-5-metilsulfinilo- β -D-ribofuranosilo)imidazol-4-carboxiamida (Compuesto No. 62 (1-510)). 5-Amino-1-(5-deoxi-5-metiltio- β -D-ribofuranosilo)imidazol-4-carboxamida (compuesto 54 (1-483)) del ejemplo AK (0.40 g) se disuelve en agua (20 ml). Peróxido de hidrógeno, 30% en peso (0.42 ml) se agrega y resolución se agita por 30 minutos. TLC (6/1, cloro metileno /metanol) indicó que hay algo del material del partida presente. Un adicional 1.0 ml de peróxido de hidrógeno se agrega y la solución se agita por 15 minutos. TLC indica que no hay material de partida. El solvente se evapora bajo presión reducida para dar una espuma amarilla. La espuma se

cromatografía en sílice utilizando 3/1, cloruro metileno/metanol, como solvente de elusión. Las fracciones apropiados se combinaron y concentraron in vacuo para dar 75 mg del compuesto anteriormente
 5 identificado como una espuma amarilla.

HPLC (Waters C18, ácido acético 0.1 N al 100%, 1.0 ml/minutos, 260 nm) indicó 2 equimolares. Esto es consistente con la oxidación del producto a una mezcla diasteromérica de sulfóxidos.¹ H NMR (DMSO-d₆) δ , ppm,
 10 2.6(s, 3H, CH₃ S(O)-), 3.0-3.2 (m, 2H, 5'-CH₂), 4.0-4.4(m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH) 5.4-5.6(m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 1'-CH), 5.9(br.s., 2H, 5-NH₂), 6.6-6.9 (br., 2H, 4-CONH₆), 7.3(s, 1H, 2-CH).

Ejemplo AS

15 Preparación de 5-Amino- 1 - β -D-(5-deoxi-5-metilaminoribofuranosilo)imidazol-4-carboxamida
 (Compuesto No. 63 (1-517))

5'-Deoxi-5'-iodo-2',3'-O-isopropilideno-AICA ribósido (1.00 g) (ref: P. C. Srivastava, A. R. Newman,
 20 T. R. Mathews, and T. R. Mathews, and R. K. Robins, J. Med. Chem., 18, 1237 (1975)), metilamina 40% en peso en agua (3 ml), y metanol (30 ml) se combinaron y calentaron al reflujo por 18 horas. La reacción de una mezcla de productos. La solución se enfrió y los solventes se
 25 evaporaron bajo presión reducida. El residuo resultante

se cromatografía en gel de sílice utilizando cloruro metileno/metanol 6/1 (400 ml) y cloruro metileno/metanol 3/1 (300 ml) como solventes de elusión. Las fracciones que contienen el componente de elusión lenta que fuera el producto deseado, se combinaron y evaporaron bajo presión reducida para dar 0.13 g de 5'-deoxi-5'-metilamino-2',3'-isopropilideno-AICA ribósido.

5'-deoxi-5'-metilamina-2', 3'-isopropilideno AICA ribósido (0.13 g) se calienta a 60°C. en ácido fórmico al 75% (20 ml) por 1.5 horas. La solución se enfrió y el solvente se evapora bajo presión reducida para dar una espuma blanca. La espuma blanca se disolvió en agua (5 ml) y aplicó a una columna cortante resina de intercambio de iones fuertemente acídica Dowex 50. La columna se lavó con agua y después se eluyó con NH_4OH IM en metanol alcohol al 20%/agua. El solvente se evapora bajo presión reducida y el residuo resultante co-evapora con metanol (3 x 20 ml) para dar 75 mg del producto anteriormente identificado como una espuma blancuzca.

^1H NMR (D_6 -DMSO- d_6) δ , ppm, 2.3 (s, 3H, CH_3N), 2.5-2.7 (m, 2H, 5'- CH_2), 3.3-3.4 (br., 1H, MENH), 3.9-4.3 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.1-5.4 (m, 2H, 2'-OH, 3'-OH), 5.4 (d, 1H, 1'-CH), 6.2 (br.s, 2H, 5- NH_2), 6.6-6.8 (br., 2H, 4-CONH), 7.2 (s, 1H, 2-CH).

Ejemplo AT

Preparación de 5-Ammo-1- β -D-ribofuranosilirnidazol-4-N-(2-clorofenilo)carboxamida (Compuesto No. 64 (1-519)). Este compuesto se prepara de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos

5 AK para el compuesto 55 (1-484) para el derivado 4-p-bromofenilo sustituyendo 2-cloroanilina por 4-bromanilina. El producto final se recristaliza a partir de cloro metileno (20 ml)/metanol (1 ml) para dar 0.25 g del producto anteriormente identificado.

10 Mp=131.degree.-135.degree. C.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ , ppm, 3.5-3.6(m, 2H, 5'-CH₂), 3.9-4.3(m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.2-5.4(m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH)₃, 5.5(d, 1H, 1'-CH), 6.2(br.s., 2H, 5-NH₂), 7.0-8.4 (m, 5H, C₆ H₄ Br, 2'-CH), 9.1(s, 1H, 4-CONH).

15

Ejemplo AU

Preparación de 5-Ammo-1- β -D-(5-benzilarnino-5-deoxiribofuranosililo) irnidazol-4-carboxamida (Compuesto No. 66(1-5311))

20 5'-deoxi-5'-iodo-2',3'-isopropilideno AICA ribósido (1.00 g) (ref: P. C. Srivastava, A. R. Newman, T. R. Mathews, and R. K. Robins, J. Med. Chem. 18: 1237 (1975)), benzilamina (2.0 ml), y metanol (40 ml) se combinaron y calentaron al reflujo por 24 horas. Después,

25 los procedimientos descritos en el Ejemplo AS para que el

Compuesto 63 (1-517)

Se siguieron para dar el compuesto anteriormente identificado.

¹ H NMR (DMSO-d₆) δ , ppm, 2.7 (d, 2H, -CH₂-C₆H₅), 3.3-3.4 (br., 1H, -NH-CH₂-C₆H₅), 3.9-4.3 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.1-5.4 (m, 2H, 2'-OH, 3'-OH), 5.4 (d, 1H, 1-CH), 6.1 (br.s., 2H, 5-NH₂), 6.6-6.8 (br., 2H, 4-CONH₂), 7.2-7.4 (m, 6H, --C₆H₅, 2-CH).

Ejemplo AV

Preparación de 5-Amino-2-tio-1- β -D-(5-deoxiribofuranosilo)imidazol-4-carboxamida (Compuesto No. 67 (1-535))

A. Preraparación de 5'-Deoxi-2',3'-isopropilideno-2-bromo-AICA Ribósido. A una solución de 5'-deoxi-2',3'-isopropilideno-AICA ribósido (2.90 g) (ref: P. C. Srivastava, A. R. Newman, T. R. Mathews, and R. K. Robins, J. Med. Chem., 18: 1237 (1975)) en cloroformo (100 ml), se agrega N- bromosuccinimida en pequeñas porciones durante 20 minutos. La solución se agita a temperatura ambiente por 30 minutos. La solución se daba con agua, dos veces con salmoera, y después seca sobre sulfato de magnesio. El solvente se evapora al vacío por dar una espuma oscura. La espuma se pasa a través de una columna de gel de sílice, diluyendo con 9:1 de cloruro de metileno: metanol. Las fracciones que

contienen productos se combinan y concentran bajo presión reducida para dar 2.02 g de una espuma que café rojiza.

B. Preparación de 5'-Deoxi-2-,3'-O-isopropilideno-2-tio AICA Ribósido

5 Sulfato de potasio (3.7 g) se calienta al reflujo en etanol (20 ml) por 15 minutos. La mezcla se filtra. El filtrado se agrega 5'-deoxi-2',3'-isopropilideno-2-bromo AICA ribósido (de la etapa A). La mezcla se calienta 100 grados C. en una bomba de acero
10 por 5.5 horas. La mezcla se enfría y filtra. El pH de filtrado se ajusta a aproximadamente 5-6 con ácido acético y el solvente evapora bajo presión reducida. El residuo resultante se pasa a través de una columna de gel de sílice, eluyendo con 7/1, cloruro de metileno/
15 metanol. Las fracciones que contienen el producto se combinaron y concentraron bajo presión reducida para dar una espuma que café oscura. La espuma se agitó en cloruro de metileno (50 ml), después el filtro para dar un polvo purpurado pálido. El polvo se agitó el metanol frío,
20 después filtro y secó al vacío para dar 0.52 g de un sólido amarillo pálido. Mp=211-214 (descomposición). C. Preparación de 5-Amino-2-thio-1-(deoxi- β -D-ribofuranosilo)imidazol-4-carboxamida (Compuesto 67 (1-535)) 5'-deoxi-2',3'-isopropilideno-2-tiol AICA
25 ribósido (0.45 g) (la etapa B) se agita en 50% ácido

fórmico (30 ml) a 50 grados C. por 1 hora. El solvente se evapora bajo presión reducida. Los residuos resultantes se co-evaporan con metanol (2 x 20 ml). El sólido resultante se calienta en metanol (25 ml) después se agita a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla se filtra y el filtrado se concentra bajo presión reducida para dar una espuma verdosa. La espuma se cromatografía en gel de sílice utilizando 5/1, cloruro metileno/metanol, como el solvente de elusión. Las fracciones apropiadas se combinaron y concentraron bajo presión reducida para dar una espuma amarilla. La espuma se cristaliza a partir de metanol frío para dar 69 mg ser compuesto anteriormente identificado p.f.=201-203 grados C, (descomposición). ¹ H NMR (DMSO-d₆) δ , ppm 1.3(d, 3H, 5'-CH₃), 3.6-4.5(m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.0-5.2 (m, 2H, 2'-OH, 3'-OH), 5.6(br.s., 2H, 5-NH₂), 6.0(d, 1H, 1'-CH), 7.0(br., 2H, 4-CONH), 12.0 (br.s., 1H, -SH).

Ejemplo AW

Preparación de N, N'-bis-(5-amino-1- β -D-ribofuranosilo imidazole-4-carbonilo)-1,6-diaminohexano (Compuesto No. 68 (1-538))

N-succinimidilo-5-amino-1-(2,3,5-tri-O-acetil- β -D-ribofuranosilo)-imidazole-4-carboxilato (2.50 g) (ref: Srivastava, P. C, et al, J. Med. Chem. 17: 1207 (1974)), 1,6 hexano diamina (0.300 g), trietilarnina (0.5 ml), y

cloruro metileno ((35 ml), se combinaron y agitan a temperatura ambiente por 18 horas. El compuesto titular se prepara de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo J. El producto final se cristaliza a partir de metanol para dar 0.32 mg del compuesto anteriormente
 5 identificado. p.f=181-185 grados C.

Datos de ^1H NMR reportados para la mitad del diméro simétrico. ^1H NMR (DMSO- d_6) δ , ppm, 1.2-1.5(m, 4H, β y δ , metilenos de N-hexildicarboxamida), 3.0-
 10 3.2(m, 2H, α , metileno de N-hexilo dicarboxamida), 3.5-3.6(m, 2H, 5'- CH_2), 3.8-4.3(m, 3H, 2'-H, 3'-CH, 4'-CH), 5.1-5.4(m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.5(d, 1H, 1'-CH), 5.9(br.s., 2H, 5-NH $_2$), 7.3(s, 1H, 2-CH), 7.4 (t, 1H, 4-CONH).

15 Ejemplo AX

Preparación de N N'-Bis-(5-Amino-1- β -D-ribofuranosilimidazol-4-carbonilo)-1,4-diaminoc y
 clohexano (Compuesto No. 69 (1-549))

Este compuesto se prepara de acuerdo con los
 20 procedimientos descritos en los Ejemplos AW para el compuesto 68 (1-538), sustituyendo 1,4-diaminociclohexano por 1,6-hexanediamina. Datos de ^1H RMN se reportan para la mitad del diméro simétrico, ^1H NMR (DMSO- d_6) δ , ppm
 25 1.3-1.8(m, 4H, protones ciclohexano metileno), 3.5-3.7(m, 3H, 5'- CH_2 , ciclohexano metina), 3.8- 4.3(m, 3H, 2'-CH,

3'-CH, 4'-CH), 5.1-5.4(m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH),
 5.5(d, 1H, 1'-CH), 5.9(br.s., 2H, 5- NH₂), 7.1(d, 1H, 4-
 CONH) 7.3(s, 1H, 2-CH). Ejemplo AY Preparación de 5-Ammo-
 2-tio-1-(5-arnino-5-deoxi- β -D- ribofuranosilo)irnidazol-
 4-carboxamida (Compuesto No. 70(1-551))

A. Preparación de 5-Deoxi-5'-iodo-2-bromo-2',
 3'-isopropilideno AICA Ribósido

2-Bromo-2'3'-isopropilideno AICA ribósido (4.50
 g) (ref: T. Miyoshi, S. Suzaki, A. Yamazaki, Chem. Pharm.
 10 Bull. 29, 9: 2089, (1976) yoduro de metiltrifenoxifosfoni
 (16.2 g), y cloruro de metileno (125 ml) se combinaron y
 registraron a temperatura ambiente por 16 horas. La
 mezcla se lava con agua, NaOH 0.5M (100 ml), NaS² O³ al 5%
 (150 ml), y salmuera después se acercaron sobre sulfato
 15 de magnesio. El solvente se evaporaran bajo presión
 reducida para dar un aceite naranja. El aceite se tritura
 en di etil éter frío. La mezcla resultante se filtra para
 dar 3.53 g de un polvo gris. El licor madre se concentra
 bajo presión reducida para dar un aceite naranja. El
 20 aceite se aplica a una corta columna de gel de sílice. La
 columna acelerada con cloruro de metileno después el
 producto se eluye con 9/1, cloruro de metileno/metanol
 (250 ml). Las fracciones apropiadas se combinan y
 concentraron bajo presión reducida para dar una brea
 25 naranja. La brea se tritura con di etil éter frío. La

mezcla se filtra para dar adicional 0.94 g de un polvo gris. El polvo combinado (4.47 g) se cromatografía en gel de sílice, utilizando 2/1, etilacetato/hexano como solvente de elusión. Las fracciones apropiadas se combinan y concentran bajo presión reducida para dar una espuma amarilla.

B. Preparación de 5'-Azido-5'-deoxi-2-bromo-2',3'-isopropilideno AICA Ribósido. 5'-deoxy-5'-iodo-2-bromo-2', 3'-isopropilideno AICA ribósido (4.02 g) litio azido (1.82 g) y DMF (65 ml) se combinan y agitan a temperatura ambiente por 2 horas. El solvente se evapora bajo presión reducida para dar un aceite amarillo. El aceite se disuelve en etil acetato (200 ml), lava con agua y salmoera y después seca sobre sulfato de magnesio. El solvente se evapora bajo presión reducida para dar una espuma amarilla (3.01 g)-.

C. Preparación de 5'-Amino-5'-deoxi-2-bromo-2',3'-isopropilideno AICA Ribósido 5'-azido-5'-deoxi-2-bromo-2', 3'-isopropilideno AICA ribósido (2.00 g), trifenilfosfina (1.83 g), y THF (100 g) se combinaron y agitaron a temperatura ambiente por 16 horas. NH_4OH (15 ml) Argueta y resolución se calienta al reflujo por 6 horas. La solución se enfría el solvente se evapora bajo presión reducida. El residuo resultante se co-evapora con metanol (2 x 30 ml). El residuo resultante se agita el

metanol frío (25 ml) por 30 minutos La mezcla se filtra para dar un polvo blancuzco. El sólido se recrystaliza a partir del metanol para dar un polvo sólido blanco (0.73 g).

5 D. Preparación de 5-Aimno-2-tMo-1-(5-amino-5-deoxi- β -D-ribofuranosilo)imidazol-4-carboxamida (Compuesto No. 70 (1-551))

Sulfuro de potasio (1.0 g) se calienta al reflujo en etanol (10 ml) por 15 minutos. La mezcla se
10 filtra y al filtrado se acreditan 5'-amino-5'-deoxi-2-bromo-2',3'-isopropilideno AICA ribósido (0.50 g). La mezcla se calienta en una bomba de acero a 110 grados C. por 5 horas. La mezcla se enfría y filtra. El filtrado de nuevo se filtra, después se concentra bajo presión
15 reducida para paso una brea amarilla. La brea se cromatografía en gel de sílice utilizando 3/1, cloruro de metileno/metanol, como solvente de elusión. Las fracciones apropiadas se combinan y concentran bajo presión reducida para dar un cristal amarillo. El cristal
20 se disuelve en 80% de ácido tri fluoro acético (8 ml) y agita a temperatura ambiente por 1 hora. El solvente se evapora bajo presión reducida para dar un sólido amarillo. El sólido se agita en di etil éter/etanol (10 ml de 95/5), después filtra y seca para dar un sólido
25 amarillo (55 mg).

^1H NMR (DMSO- d_6 + D_2O) δ , ppm, 2.6-2.9(m, 2H, 5'- CH_2 -), 3.8-4.5(m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 6.2(d, 1H, 1'-CH).

Ejemplo AZ

5 Preparación de 5-Amino-1-(5-azido-5-deoxi- β -D-ribofuranosilo)imidazol-4-N-(4-nitrofenilo)metilcarboxamida (Compuesto No. 71 (1-562))

Este compuesto se prepara de acuerdo con los procedimientos descritos en los Ejemplos AH para el
10 compuesto 52 (1-467), sustituyendo el compuesto 23 (1-343) (derivado p-nitrobenzilo), para el compuesto 29 (1-349) (derivado p-clorobenzilo).

^1H NMR (DMSO- d_6) δ , ppm, 3.5-3.7(m, 2H, 5'- CH_2), 3.9-4.4(m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 4.4-4.5(d, 2H, $-\text{CH}_2$
15 $-\text{PhNO}_2$), 5.4-5.5(m, 2H, 2'-OH, 3'-OH), 5.5(d, 1H, 1'-CH), 5.9(br.s., 2H, 5- NH_2), 7.4(s, 1H, 2-CH), 6.5-8.2 (m, 4H, $-\text{C}_6\text{H}_4\text{NO}_2$), 8.3(4, 1H, CONH-).

Ejemplo BA

Preparación de 5-Amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -D-ribofuranosilo)
20 imidazol-4-N-(4-nitrofenilo)metilcarboxamida (Compuesto No. 72 (1-563)). Este compuesto se prepara de acuerdo con los procedimientos escritos en el Ejemplo AH para la comparación 53 (1-468), sustituyendo en el derivado de p-nitrobenzil amida
25 (compuesto 23 (1-343)) por el derivado p-clorobenzil

amida (compuesto 29 (1-349)).

^1H NMR (DMSO- D_2O) δ , ppm 2.6-2.8 (m, 2H, 5'-CH₂ --), 3.8-4.3 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 4.4-4.5 (m, 2H, -CH₂-C₆H₄NO₂), 5.4 (d, 1H, 1'-CH), 7.3 (s, 1H, 2-CH), 7.5-8.3 (m, 5H, CH₂C₆H₄NO₂, 4-CONH).

Ejemplo BB

Preparación de 5-Amino-1- β -D-ribofuranosilo-imidazol-4-N->(4-(trifluorometilfenilo) metilcarboxamida (Compuesto No. 74 (1-572)). Este compuesto se prepara de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo J para que el derivado p-nitrobenzilo que sustituyendo 4-(trifluorometilo)benzilamina por el hidrocloreto de 4-nitrobenzilo amina. El producto final se recristaliza a partir de cloruro/metileno. p.f =137-140.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ , ppm 3.5-3.7 (m, 2H, 5'-CH₂), 3.9-4.4 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 4.4-4.5 (d, 2H, -CH₂-PhCF₃), 5.2-5.5 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.5 (d, 1H, 1'-CH), 5.9 (br.s., 2H, 5-NH₂), 7.3 (s, 1H, 2-CH), 7.4-7.7 (m, 4H, -C₆H₄CF₃), 8.2 (t, 1H, 4-CONH).

Ejemplo BC

Preparación de 5-Amino-1- β -D-ribofuranosilimidazol-4-N->(4-sulfamoylfenilo)metilcarboxamida (Compuesto No. 75 (1-577))

Este compuesto se prepara de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo J para que el

derivado p-nitrobenzilo sustituyendo hidrocloreuro de 4-(aminometil)benzeno sulfonamida por hidrocloreuro de 4-nitrobenzilamina.

^1H NMR (DMSO- d_6) δ , ppm, 3.5-3.7(m, 2H, 5'-CH₂-), 3.9-4.4(m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 4.4-4.5(d, 2H, -CH₂-C₆H₄SO₂), 5.2-5.4(m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.5(d, 1H, 1'-CH), 6.0(br.s., 2H, 5-NH₂), 7.3(br.s., 2H, -SO₂NH₂), 7.4(s, 1H, 2-CH), 7.4-7.8(m, 4H, -C₆H₄-), 8.2(t, 1H, 4-CONH-).

10 Ejemplo BD

Preparación de 5-Amino-1-(5-(4-clorobenzilo-amino)-5-deoxi β -D-ribofuranosilo)imidazol-4-carboxamido (Compuesto No. 76 (1-578))

5'-amino-5'-deoxi-AICA-ribósido (0.50 g) (compuesto No. 21 (1-227)) de la Tabla VIII, yoduro de 4-clorobenzilo (0.50 g), carbonato de potasio (0.26 g), y DMF (15 ml) se combinan y agitan a temperatura ambiente por 16 horas. El solvente se evapora bajo presión reducida y el residuo resultante se agita en etanol caliente (35 ml). Los insolubles se retiran por filtración y el filtrado se concentró bajo presión producida. El residuo resultante de cromatografía en gel de sílice utilizando 3:1, cloruro de metileno: metanol, como solvente de elusión. Las fracciones que contienen el producto de más lento movimiento de los dos se combinan y

concentran bajo presión reducida para dar una espuma tostada (0.21 g).

^1H NMR (DMSO- d_6 + D_2) δ , ppm 2.9-3.0 (m, 2H, 5'-CH₂-), 3.9(s, 2H, -CH₂-C₆H₄), 3.9-4.3(m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.5(d, 1H, 1'-CH), 7.3(s, 1H, 2-CH), 7.4(m, 4H, -C₆H₄Cl).

Ejemplo BE

Preparación de 5-Amino-1-(5-deoxi- β -D-ribofuranosilo)imidazol; (Compuesto No. 77 (1-588))

5'-deoxi AICA ribósido (1.00 g) (ref: P. C. Srivastava, A. R. Newman, T. R. Mathews, and R. F. Robins, J. Med. Chem. 18: 1237 (1975) se calienta al reflujo en hidroxilo de potasio N (4.0 ml) por 5 horas. El solvente se evapora bajo presión reducida y el residuo resultante co-evapora con etanol (4 X 10 ml).

El residuo resultante se diluye con etanol (15 ml) y se filtra aún precipitados fino. Al sedimentar por varios días, el filtrado dio un precipitado adicional. El sólido microscópico se recolecta y el material sólido combinado se disuelve en agua (20 ml) y neutralizar con resina de intercambio iónico fuertemente acídica Dowex 50W. El solvente se evapora bajo presión reducida para dar una brea oscura. La brea se disuelve en ácido acético al 80% (20 ml y calienta ligeramente (60°C). El solvente se evapora bajo presión reducida para dar una

brea oscura. La brea seca evapora con metanol (2 X 15 ml). El residuo resultante de cromatografía en gel de sílice usando 3/1, cloruro de metileno/metanol, como solvente de elusión. Las fracciones apropiadas se combinan y concentraron bajo presión reducida para dar una brea oscura. La brea seca-evapora con tolueno (3 X 20 ml), después secar al vacío para dar una espuma hidrosópica café oscura (110 mg).

^1H NMR (D_2O) δ , ppm, 1.3(d, 3H, 5'-CH₃), 4.0-4.5(m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.6(d, 1H, 1'-CH), 6.4(s, 1H, 4-CH), 7.7(s, 1H, 2-CH).

Ejemplo BF

Preparación de -Amino-1-(5-deoxi-5-dietilaminoribo- β ,D-furanosilo)imidazol-4-carboxamida (Compuesto No.65 (1-522) 5-deoxi-5'-iodo-2',3'-isopropilideno AICA ribósido (1.00 g) (ref.: P. C. Srivastava, A. R. Newman, T. R. Mathews, and R. K. Robins, J. Med. Chem. Chem., 18, 1237 (1975)), dietilamina (2.5 ml de 40% peso en agua) y metanol (30 ml) se combinaron y calentaron al reflujo por 18 horas. Los procedimientos descritos en el Ejemplo AS para que el Compuesto 63 (1-519) se siguieron para dar el compuesto anteriormente identificado.

^1H NMR (DMSO-d_6) δ , ppm 0.9 (t, 6H, grupos metilo en 5'-dietilamina), 2.4-2.7 (m, 6H, 5'-CH₂, grupos

metileno en 5'-dietilamina), 3.3-4.2 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.2 (br., 2H, 2'-OH, 3'-OH), 5.4 (d, 1H, 1'-CH), 5.9 (br.s., 2H, 5-NH₂), 5.7-5.9 (br., 2H, 4-CONH₂), 7.3 (s, 1H, 2-CH).

5 Ejemplo BG

Preparación de 5Amino-1- β -D-ribofuranosilimidazol-4-N->3-4-nitrofenilo)propilcarboxamida (Compuesto No. 73 (1-566))

10 Este compuesto se prepara de acuerdo con los procedimientos descritos en el Ejemplo J para que el derivado p-nitrobenzilo sustituyendo 3-(4-nitrofenilo)propilamino (ref: G. W. Hardy, et al., J. Med. Chem. 32: 1108, (1989)) por hidrocloreuro de p-nitrobenzilamina.

15 ¹H NMR (DMSO-d₆) δ , ppm 1.7-3.2 (m, 6H, -CH₂CH₂-), 3.5-3.6 (m, 2H, 5'-CH₂), 3.9-4.3 (m, 3H, 2'-CH, 3'-CH, 4'-CH), 5.2-5.4 (m, 3H, 2'-OH, 3'-OH, 5'-OH), 5.5 (d, 2H, 1'-CH), 5.9 (br.s., 2H, 5-NH₂), 7.3 (s, 1H, 2-CH), 7.5-8.2 (m, 5H, --CH₆H₄NO₂-CONH-).

20 Ejemplo BH

Preparación de 5-Amino-1-(5-amino-5-deoxi-2,3-di-O-acetil- β -D-ribofuranosilo)imidazol e-4-N->(4-clorofenilo) metilcarboxamida, (Compuesto No. 78 (1-599))

25 A. Preparación de 5-amino-1-(5-ácido-5-deoxi-2,3-di-O-acetil- β -D-ribofuranosil)imidazol e-4-N->4-

clorofenil) metilcarboxamida.

Compuesto 52 (ejemplo AH), 2.4 g (5.8 mmol), se disuelven una mezcla de 20 ml y 20 ml diemtilformamido de piridina. La solución se enfría a 30°C bajo argón y
 5 anhídrido acético, 1.5 g, (14 mmol), se agrega La mezcla se deja que caliente temperatura ambiente sobre 18 horas y después concentrado jarabe. El jarabe se disuelve a 25 ml de cloruro de metileno y lava con 3 X 15 ml de agua, seca sobre sulfato de magnesio y evapora para dar 3.0
 10 gramos de una espuma blanca. Está además se purificó por cromatografía en 200 ml de gel de sílice utilizando una mezcla de cloruro de metileno y metanol (95:5) dando por resultado 2.5 gramos del producto deseado como una espuma blanca.

15 B. Preparación de 5-amino-(5-amino-5-deoxi-2,3-di-O acetil- β -D-ribofuranosilo)imidazol-4-N- >(4-clorofenil)metilcarboxi amida (Compuesto No. 78 (1-599).

El producto de la etapa A, 400 mg, se disuelve en 10 ml de etanol y 50 mg de Pd en carbón al 10% se
 20 agrega. La mezcla se agita bajo una atmósfera de hidrógeno por 30 minutos filtra y el filtrado se evapora para dar 300 mg del producto deseado como una espuma blanca.

¹ H NMR DMSO-d₆) δ 2.0 (s, 3H, CH₃ CO-), 2.1 (s, 3H, CH₃ CO-), 2.9 (m, 2H, 5'-CH₂), 4.1 (m, 1H, 4'-CH), 3.4

(br. s, 2H, 5'-NH₂) 4.4 (d, 2H, -CH₂ -C₆ H₄ - Cl), 5.3 (m, IH, 3'-CH) 5.6 (m, IH, 3'-CH), 5.8 (d, IH, 1'-CH), 6.4 (br. s, 2H, 5-NH₂), 7.3 (m, 4H, -C₆ H₄ -Cl), 7.4 (s, IH, 2-CH), 8.1 (t, IH, 4-CONH-).

5 Ejemplo BI

Profármacos de la invención también pueden prepararse y administrarse bajo condiciones apropiadas. En una modalidad preferida, las profármacos de la invención mejoran la biodisponibilidad oral e incluyen en particular los ésteres de ácido carboxílico de 2' y 3' hidroxilos.

Ésteres profármaco de la invención pueden elaborarse por procedimiento de acetilación estándar, que pueden involucrar etapas de protección y desprotección. Por ejemplo, el grupo 5' de los compuestos serie III puede requerir protección (por ejemplo 5'-bencilamino del compuesto 66 puede protegerse con un grupo benciloxicarbonilo).

Preparación de 5-Amino-1-(5-N-bencilamino-2,3,-di-O-pivaloil-5-deoxi- β -D-ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida (profármaco de compuesto 66).

Sal tartrato de 1-(5-N-bencilamino-5-deoxi- β -D-ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida (8.8 g, 16.77 mmol) en agua (60 mL) carbonato de potasio (8.5 g) y tetrahidrofurno (120 mL) se coloca en un matraz de fondo

redondo, de tres cuellos, adaptado con un agitador mecánico, un embudo de adición y entrada de nitrógeno. El matraz se enfría en un baño de hielo-agua. Una solución de bencil cloroformato (3.4 mL, 20 mmol) en THF (15 mL) se agrega sobre un periodo de 15 minutos. El baño de enfriamiento se retira y se continua la agitación por 2 horas, en cuyo tiempo t.l.c. (SiO_2 , 6:1 CH_2Cl_2 -Metanol) indica consumo complete del material de partida. La mezcla de reacción se transfiere a un embudo de separación y la capa orgánica se separa. La capa acuosa se lava con etilacetato (3x 30 mL). Las capas orgánicas se combinan, secan sobre MgSO_4 anhidro y evaporan para obtener un residuo tipo jarabe. El producto además se purifica por cromatografía en columna utilizando 9:1 CH_2Cl_2 -Metanol como el sistema de dilución. Fracciones que contienen el producto se reunieron y evaporaron para obtener

Un 5-amino-1-(5-N-bencilamino-N-benioxycarbonil-5-deoxi- β -D-ribofuranosi 1)imidazol-4- carboxamida como un sólido vítreo. Rendimiento: 5.5 g. $R_f=0.5$ SiO_2 , 6:1 CH_2Cl_2 -Metanol.

Una solución del compuesto A (2.0 g, 4.15 mmol) y 4-N,N-dimetilaminopiridina (100 mg) en piridina seca (20 mL) se enfría en un baño de agua-hielo y trata con anhídrido piválico (3.3 mL). El baño de hielo se retira y

la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente por 16 horas. El t.l.c. (SiO_2 , 9:1 $\text{CH}_2 \text{Cl}_2$ -Metanol) indica consumo completo del material de partida. Metanol (1.5 mL) se agrega y agita por media hora adicional y los volátiles se evaporan bajo presión reducida. El residuo se disuelve en etil acetato (50 mL) y extrae con agua (1x 50 mL) y solución de bicarbonato de sodio (1x 20 mL). La capa orgánica se seca sobre MgSO_4 anhidro y evapora para obtener un residuo tipo jarabe. El producto además se purifica por cromatografía en columna utilizando 19:1 $\text{CH}_2 \text{Cl}_2$ -Metanol como el sistema de elusión. Fracciones que contienen el producto se reunieron y evaporaron para obtener

B. 5-amino-1-(5-N-bencilamino-N-benioxycarbonil-2,3-di-O-pivaloil-5-deoxi- β -D-ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida como un sólido vítreo. Rendimiento: 5.5 g. $R_f=0.6$ SiO_2 , 9:1 $\text{CH}_2 \text{Cl}_2$ - Metanol. HNMR, DMSC- d_6 δ , ppm.

A una solución del compuesto B (1.1 g) en etil acetato (30.0 mL) y ácido acético (6.0 mL) el catalizador $\text{Pd}(\text{OH})_2$ en carbono (100 mg) se agrega y purga con nitrógeno. Se llevó a cabo la hidrogenación utilizando un globo de hidrógeno. La terminación de la reacción se evidencia por la ausencia del material de partida en t.l.c. (SiO_2 , 9: 1 $\text{CH}_2 \text{Cl}_2$ -Metanol). El catalizador se retira por filtración a través de un cojín de salitre y

lava con etil acetato. El filtrado se evapora bajo presión reducida y el residuo se re-disuelve en etil acetato (50 mL) y extrae con solución de bicarbonato de suero saturada (1x 20 mL). La capa orgánica se seca sobre
 5 MgSO₄ anhidro y evapora para obtener un residuo que además se purifica sobre una columna de gel de sílice utilizando 19:1 CH₂ Cl₂ -Metanol como el sistema de elusión. Fracciones que contienen el producto se reunieron y evaporaron para obtener

10 C. 5-amino-1-(5-N-bencilamino-N-benilamino-2,3-di-O-pivaloil-5-deoxi- β -D - ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida como un sólido vítreo. Rendimiento: 800 mg. Rf=0.55 SiO₂, 9:1 CH₂ Cl₂ -Metanol.

Para obtener la sal hidrocioruro
 15 correspondiente del compuesto titular, la base libre anterior (200 mg) se disuelve en metanol y diluye con solución HCl acuosa al 1N. La solución resultante se evapora bajo presión reducida (temperatura de baño 30 C). El residuo se disuelve en agua doble destilada (15 mL) y
 20 filtra a través de un filtro de membrana de 45 μ . El filtrado se congela en un tarro de leofilización y leofiliza repetidamente hasta que se obtiene un peso constante. El producto final hidrocioruro 5-amino-1-(5-N-bencilamino-N-benilamino-2,3-di-O-pivaloil-5- deoxi- β -D-
 25 ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida se obtiene como un

sólido blanco y se seca al alto vacío y almacena en el congelador. Rendimiento 180 mg, p.f. 172 grados-175 grados C.

Pueden elaborarse las siguientes profármacos en
5 forma similar.

5-amino-1-(5-N-bencilamino-2,3-di-O-acetil-5-deoxi- β -D-ribofuranosil)imidazol-4- carboxamida

5-amino- 1 -(5-N-bencilamino-2,3-di-O-propionil-5-deoxi- β -D-ribofuranosi l)imidazol-4- carboxamida

10 5-amino-1-(5-N-bencilamino-2,3-di-O-butiril-5-deoxi- β -D-ribofuranosil) imidazol-4- carboxamida

5-amino- 1 -(5-N-bencilarnino-2,3-di-O-isobutiril-5-deoxi- β -D-ribofuranos il)imidazol-4- carboxamida

15 5-amino-1 -(5-N-bencilanimo-2,3-di-O-pentanoil-5-deoxi- β -D-ribofuranosi l)imidazol-4- carboxamida

5-amino-1-(5-N-bencilamitio-2,3-di-O-benzoil-5-deoxi- β -D-ribofuranosil) irnidazol-4- carboxamida

5-atrúno-1-(5-N-bencilamino-2,3-di-O-(4-metilbenzoil)-5-deoxi-- β -D-ribo fiiranosil)iinidazol- 4-carboxamida

20 5-amino-1-(5-N-bencilamino-2,3-di-O-fenilacetil-5-deoxi- β -D-ribofuran osil)imidazol-4- carboxamida

5-amino-1-(5-N-bencilamino-2,3-di-O-paliiiiiitoil-5-deoxi- β -D-ribofltranosil l)imidazol-4- carboxamida

25 5-amino-1-(5-N-bencilamino-2,3-di-O-oleil-5-deoxi- β -D-ribofuranosil)imidazol-4- carboxamida

carbonato 5-amino-1-(5-N-bencilamino-5-deoxi- β -D-ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida-2',3'-cíclico.

Ejemplo BJ

La biodisponibilidad oral del compuesto 66 (1-531) y de sus profármacos (por ejemplo BH) se estudió con base en excreción urinaria del compuesto 66 siguiendo su administración y la administración de la profármaco. Un bolo de IV del compuesto 66 se utiliza como el control 100% biodisponible.

Cuatro ratas se emplearon para cada profármaco y cada ruta de administración. Se retiró el alimento por 2 horas antes y dos horas después de dosis: se permitió agua. El primer grupo de ratas recibió una solución acuosa del compuesto 66 como la sal tartrato (20 mg/kg equivalentes de base libre) como un bolo mediante la vena en la cola. El segundo grupo recibió una solución acuosa del compuesto 66 como una sal tartrato (20 mg/kg equivalentes de base libre) por suministro oral. El tercer grupo de ratas recibió una solución de la profármaco, 5-Amino-1-(5-N-bencilamino-2,3-di-O-pivaloil-5-deoxi- β -D-ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida (equivalentes del compuesto 66 como una base libre) por suministro oral.

Las ratas se mantuvieron en jaulas metabólicas, y se recolectó la orina en los siguientes intervalos: -

15-0 (control), 0-24, y 24-48 horas. El volumen de cada recolección se registró y una alícuota de 5 mL se congeló a 20 grados C. Las concentraciones urinarias del compuesto 66 después se determinaron para estas administraciones IV y oral.

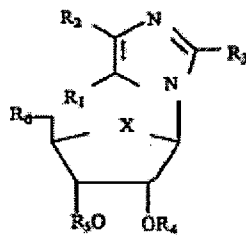
Las muestras se ensayaron para compuesto 66 intacto por HPLC. Cada muestra se diluyó 1:10 con agua antes de análisis HPLC, que se realiza en una columna de fase inversa Beckman Ultrasphere C₁₈ (4.6x 150 mm, 5 micras) eluida isocráticamente a temperatura ambiente con una fase móvil de metanol al 40% y ácido heptan sulfónico 20 mM (sal de sodio) a un gasto de flujo de 1.5 ml/min. El eluyente se supervisa por absorbancia de UV a 259 nm.

Biodisponibilidad oral se determina al comparar la cantidad de la base libre del compuesto 66 excretada como un % de dosis siguiendo dosis IV oral. La biodisponibilidad se estima aproximadamente 48% para la profármaco y 14% para el tartrato.

TABLA XII

20

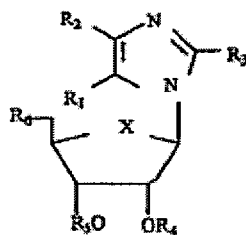
TABLA XII	
COMPUESTOS DE LA FÓRMULA	



Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	X	R ₄	R ₅	R ₆
Número							
10 (1-110)	-NH ₂	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{CNH}_2 \end{array}$	-H	-O-	-H	-H	-OH
2 (1-111)	-NH ₂	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{CNH}_2 \end{array}$	-H	-O-	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{CCH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{CCH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{CCH}_3 \end{array}$
3 (1-115)	-NH ₂	-CN	-H	-O-	-H	-H	-OH
4 (1-122)	-NH ₂	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{NOH} \end{array}$	-H	-O-	-H	-H	-OH
5 (1-145)	-NH ₂	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{CNH}_2 \end{array}$	-H	-CH ₂ -	-H	-H	-OH
6 (1-155)	-NH ₂	$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \diagup \\ \text{C} \\ \diagdown \\ \text{OCH}_2\text{CH}_3 \end{array}$	-H	-O-	-H	-H	-OH
7 (1-164)	-N=CHN	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{CNH}_2 \end{array}$	-H	-O-	-H	-H	-OH
	(CH ₂) ₂						
8 (1-172)	-NH ₂	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{CNH}_2 \end{array}$	-H	-O-	-H	-H	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{OP}-\text{OH} \\ \\ \text{OH} \end{array}$
9 (1-177)	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{NHCCH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{CNH}_2 \end{array}$	-H	-O-	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{CCH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{CCH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{CCH}_3 \end{array}$

TABLA XII

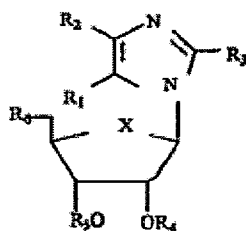
COMPUESTOS DE LA FÓRMULA



Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	X	R ₄	R ₅	R ₆
Número							
10 (1-186)	-NH		-H	-O-	-H	-H	-OH
11 (1-226)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
12 (1-232)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
13 (1-240)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
14 (1-260)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
15 (1-261)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OS
							(O) ₂ NH ₃
16 (1-273)	-NH ₂	-H	-H	-O-	-H	-H	-OH
17 (1-295)		-H	-H	-O-	-H	-H	-OH
18 (1-335)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH

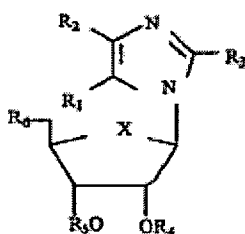
TABLA XII

COMPUESTOS DE LA FÓRMULA



Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	X	R ₄	R ₅	R ₆
Número							
19 (1-154)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-H
20 (1-188)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
21 (1-227)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-NH ₂
22 (1-243)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-CH ₃	-OH
23 (1-343)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
24 (1-354)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
25 (1-360)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
26 (1-332)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-Cl
27 (1-395)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH

TABLA XII
COMPUESTOS DE LA FÓRMULA



Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	X	R ₄	R ₅	R ₆
Número							
28 (1-348)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
29 (1-349)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH

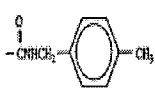
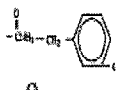
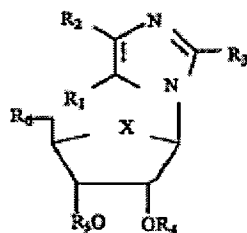
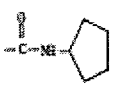
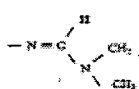
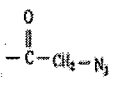
30 (1-388)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
31 (1-251)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-	-OH
32 (1-262)	-NH ₂		-H	-O-	-(CH ₂) ₂	-H	-OH
33 (1-263)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-	-OH
34 (1-250)	-NH ₂		-H	-O-	-CH ₂ CH ₃	-H	-OH
35 (1-355)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
36 (1-207)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH

TABLA XII

COMPUESTOS DE LA FÓRMULA

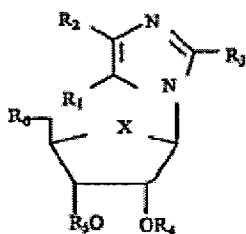


Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	X	R ₄	R ₅	R ₆
Número							
37 (1-270)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
38 (1-351)			-H	-O-	-H	-H	-OH

49 (1-453)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
50 (1-459)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
51 (1-466)	-N=CHN		-H	-O-	-H	-H	-OH
	(CH ₂) ₂						
52 (1-459)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-N ₃

TABLA XII

COMPUESTOS DE LA FÓRMULA



Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	X	R ₄	R ₅	R ₆
Número							
53 (1-468)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-NH ₃ +Cl
54 (1-483)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-S- CH ₃
55 (1-484)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
56 (1-487)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
57 (1-488)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
58 (1-489)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH

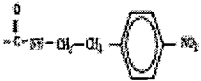
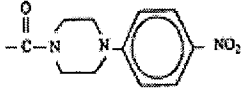
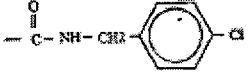
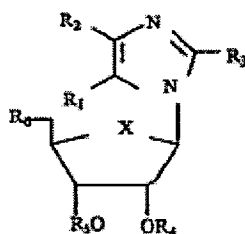
59 (1-506)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
60 (1-509)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH
61 (1-509)	-NH ₂		-H	-O-	-H	-H	-OH

TABLA XII
COMPUESTOS DE LA FÓRMULA



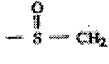
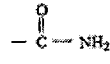
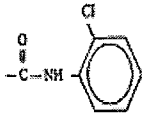
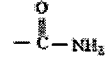
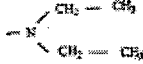
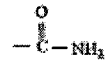
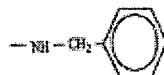
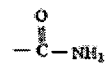
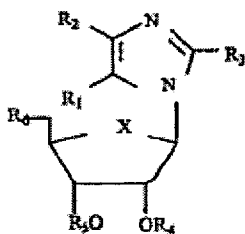
Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	X	R ₄	R ₅	R ₆
Número							
62 (1-510)	-NH ₂		-H	-	-H	-H	
				O-			
63 (1-517)	-NH ₂		-H	-	-H	-H	-NH-CH ₃
				O-			
62 (1-519)	-NH ₂		-H	-	-H	-H	-OH
				O-			
63 (1-522)	-NH ₂		-H	-	-H	-H	
				O-			
64 (1-531)	-NH ₂		-H	-	-H	-H	
				O-			
67 (1-535)	-NH ₂		-	-	-H	-H	-H

TABLA XII
COMPUESTOS DE LA FÓRMULA



Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	X	R ₄	R ₅	R ₆
Número							
76 (1-578)	-NH ₂	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{NH}_2 \end{array}$	-H	-	-H	-H	$-\text{NH}-\text{CH}_2-$ 
				O-			
77 (1-588)	-NH ₂	-H	-H	-	-H	-H	-OH
				O-			
78 (1-599)	-NH ₂	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{NH}_2 \end{array}$ 	-H	-	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{CH}_3 \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{CH}_3 \end{array}$	-OH
				O-			
79 (1-607)	-NH ₂	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{NH}_2 \end{array}$	-H	-	-H	-H	-OH
				O-			

Ejemplo: Administración de aspirina reduce morbilidad y mortalidad siguiendo a cirugía cardíaca.

5 El siguiente ejemplo describe aspectos específicos de la invención para ilustrar la invención y proporciona la descripción de los métodos empleados para reducir la morbilidad y mortalidad después de cirugía

cardíaca. El ejemplo no habrá de considerarse como limitante de la invención ya que el ejemplo simplemente proporciona metodología específica útil para comprender y practicar la invención.

5 1. Materiales y métodos

a. Población de pacientes y métodos

 Un estudio longitudinal prospecto admitió a 5,436 pacientes. Los pacientes elegibles incluyen aquellos con enfermedades de arteria coronaria refractaria médicamente y programados para cirugía de puente de arteria coronaria en 70 instituciones médicas entre 17 países en Norte y Sudamérica, Europa, el Medio Oriente y Asia. En cada institución, 100 pacientes fueron admitidos como prospecto de acuerdo con un esquema de muestreo sistemático que permite un muestreo aleatorio de pacientes de cada institución entre todos los pacientes que se someten a cirugía en esa institución.

 De los 5,436 pacientes admitidos, 5,065 completaron el estudio y fueron incluidos en el análisis final. De los 371 pacientes excluidos, 32 fueron excluidos debido a remoción o separación del paciente, 2 debido a muerte antes de cirugía, 97 debido a cancelación o reprogramación de cirugía, 132 pacientes debido a cambio en procedimiento, 11 debido a participación accidental en otro estudio, 86 debido a datos incompletos

y 11 debido a incompleto muestreado, embarque o almacenamiento de sangre.

La aspirina se administró en dosis de 160 mg a 650 mg a 3,001 pacientes dentro de 48 horas de revascularización. Todos los efectos secundarios potenciales asociados con el uso de aspirina se registraron diariamente por investigadores ciegos. Los investigadores independientes codificaron todos los medicamentos recibidos- incluyendo medicamentos pro y anti trombóticos y pro- y anti coagulantes, y productos de sangre- por día a través de la hospitalización así como en admisión y en alta médica o hasta la muerte.

b. Datos de Estudio

Para cada paciente admitido, aproximadamente 7,500 campos de datos se recolectaron a través de la hospitalización de índice de paciente desde la admisión hasta el alta médica, por investigadores independientes; los médicos tratados fueron ciegos a todos los datos de la investigación. Datos incluyen resultados demográficos, históricos, clínicos, de laboratorio, electrocardiográficos, pruebas especializadas, utilización de recursos y adversos. Siguiendo la admisión del último paciente, todos los campos de datos para cada paciente fueron consultados centralmente para estar completos y precisos, con todos los cambios documentados

antes del cierre de la base de datos.

c. Medición de resultados

Todos los resultados fueron pre-especificados, definidos por protocolo, y discernidos por los investigadores ciegos al grupo de tratamiento. Resultados fatales y no fatales se clasificaron como cardíaco (infarto al miocardio, falla cardíaca congestiva y muerte cardíaca), cerebral (derrame cerebral, encefalopatía y muerte cerebral), renal (disfunción, falla y muerte renal), gastrointestinal (isquemia, infarto y muerte GI), u otro (tales como infecciones, pulmonares). El diagnóstico de infarto al miocardio requiere ya sea: el desarrollo de nuevas ondas Q (como se define por el código de Minnesota 1-1- II o 5 H-2-7) o nuevos cambios de segmento S T u onda T persistentes (código de Minnesota 4-1, 4-2, 5-1 o 5-2) asociado con elevación de los valores de iso-enzima CK-MB; o evidencia de autopsia de infarto al miocardio agudo. El diagnóstico de falla cardíaca requiere ya sea: el uso de dispositivo de asistencia ventricular; o el uso de soporte inotrópico continuo por al menos 24 horas o evidencia de autopsia de falla cardíaca. Los resultados cerebrales se clasificaron como: derrame cerebral químicamente diagnosticado o encefalopatía o CT, MRI o evidencia de autopsia de un defecto focal o global. Disfunción renal se define como:

creatinina en suero $>177 \mu\text{mol/L}$ acompañada por $>62 \mu\text{mol/L}$ de aumento sobre la línea base; y falla renal se definió como disfunción que requiere diálisis o evidencia de autopsia de falla renal. Isquemia gastrointestinal se define como dolor abdominal diagnosticado como isquemia intestinal, o detección en exploración; infarto requiere resección intestinal o evidencia de autopsia de infarto intestinal.

d. Análisis estadístico

El riesgo de muerte por tomar aspirina contra población de control se compara utilizando la prueba Chi-Cuadrado. Resultados isquémicos individuales que involucran el corazón, cerebro, riñón y tracto gastrointestinal y resultados isquémicos combinados se compararon utilizando la prueba exacta de Fisher o la prueba Chi-Cuadrado según sea apropiado. Las proporciones de probabilidades y los intervalos de 95% de confianza se presentan con valores P asociados. Todas las variables de pronóstico significantes a valores P nominales de dos colas < 0.15 en análisis univariado se suministraron entonces en un modelo logístico multivariado. Se realizó regresión logística escalonada, reteniendo variables significantes en valores P nominales de dos colas (< 0.05). Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa SAS versión 8.12. (SAS Institute, Cary, N.C.)

e. Resultados

Pequeñas diferencias existen entre los grupos de estudio, notablemente pacientes que reciben aspirina fueron más probable que tuvieran angina inestable, antes de PTCA y tratados con beta-bloqueadores, bloqueadores de canal calcio y terapia anti plaquetas y menos probable que tengan una historia de falla cardíaca y sean tratados con inhibidos ACE (Tabla 1). Ninguna otra diferencia importante existe para cualquier característica médica o quirúrgica. La mayoría de los medicamentos cardíacos se continuaron hasta el tiempo de cirugía sin embargo, se interrumpieron los medicamentos anti plaquetas antes de cirugía en 50% de los pacientes que recibieron tratamiento anti plaquetas ante ingreso al hospital.

Pacientes que reciben aspirina dentro de 48 horas de revascularización tuvieron un cuarto del riesgo de morir durante hospitalización (1.4% v. 5.9%; $P = 0.0001$). Pacientes que reciben aspirina también tuvieron la mitad del riesgo de complicaciones isquémicas no fatales asociadas con el corazón, cerebro, riñón, o tracto gastrointestinal (13.6% v. 24.5%; $P = 0.0001$). Figura 24. de aquellos que recibieron aspirina, ninguno murió dentro de 12 horas de cirugía (contra 25 pacientes en un grupo de control) y uno murió en 48 horas de cirugía (contra 42 pacientes del grupo de control). Figura 25.

Supervivencia mejorada sobre los primeros 30 días post-quirúrgicos se asocia solo con uso temprano de aspirina, en oposición a otros factores reversibles. (figura 25). Un primer uso de aspirina 48 horas después de cirugía no se asocia con una reducción significativa de mortalidad (15%; $P=0.534$). El efecto benéfico de aspirina en resultados fatales fue significativo sobre todos los subconjuntos incluyendo género, edad, región geográfica y tipo de seguro. La duración de hospitalización se disminuye en aquellos que reciben aspirina (9.57 ± 7.14 contra 11.32 ± 9.44 ; $P < 0.0001$). Los riesgos asociados con transfusión de plaquetas después de reperfusión y anti-fibrinolíticos profilácticos se asociaron con riesgo incrementado de morir y complicaciones isquémicas. El uso de aspirina substancialmente reduce pero no elimina estos riesgos. Figura 26. Además de los beneficios inesperados del uso de aspirina de acuerdo con los métodos, el uso de aspirina también fue seguro. Tabla 2.

Diversas modalidades de la invención se han descrito. Las descripciones y ejemplos se pretenden ilustrativos de la invención y no limitantes. Sin duda, será aparente para aquellos con destreza en la técnica que pueden realizarse modificaciones a las diversas modalidades de la invención descritas sin apartarse del espíritu de la invención o alcance de las

reivindicaciones anexas establecidas a continuación.

Tabla 1. Línea base

		Todos los Pacientes (N = 5605	Grupo aspirina (N = 3001)	Grupo Sin- Aspirina (N = 2064)	Valor P
Edad (años)					
	Promedio (± SD)	64.1 (± 9.76)	63.6 (± 9.71)	64.7 (± 9.8)	<0.0001
	Mediana	64.8	64.3	65.5	<0.0001
Área Superficial del Cuerpo <1.93 ²		49.2% (2478)	52.6% (1573)	44.0% (905)	<0.001
Género Femenino		20.5% (1038)	19.3% (579)	22.2% (459)	0.0107
Raza*		8.2% (413)	7.4% (221)	9.3% (192)	0.0141
Historia Cardíaca					
Diabetes		30.1% (1525)	29.2% (877)	31.4% (648)	0.0941
Hipertensión		67.3%	66.6%	68.9%	0.0839

		(3407)	(1993)	(1414)	
Fumador		69.2% (3506)	71.1% (2132)	66.7% (1374)	0.0007
Hipercoles- terolemia		70.6% (3575)	74.5% (2183)	69.3% (1392)	<0.0001
Angina Inestable		50.3% (2550)	52.1% (1564)	47.8% (986)	<0.001
Infarto al Miocardio		51.4% (2603)	52.5% (1558)	51.2% (1045)	0.3498
Falla Cardíaca Congestiva		34.7% (1758)	41.7% (853)	30.3% (905)	<0.0001
PTCA		15.1% (767)	16.2% (484)	13.8% (283)	0.0184
CABG		6.0% (306)	5.9% (177)	6.3% (129)	0.6054
Medicamentos					
En admisión al hospital /antes de cirugía					
Inhibidor ACE		40.9%/ 38.0%	40.9%/ 38.0%	40.9%/ 38.0%	<0.0001
Beta- bloqueadores		62.3%/ 63.9%	65.6%/ 67.9%	57.6%/ 58.1%	<0.0001

Bloqueadores de Canal calcio		33.4%/ 31.4%	35.7%/ 33.9%	30.1%/ 28.7%	<0.0001
Terapia Anti- plaquetas		48.9%/ 23.8%	53.4%/ 26.8%	42.1%/ 19.2%	<0.0001
Aspirina		46.8%/ 22.4%	53.4%/ 25.9%	39.2%/ 17.3%	<0.0001
Dipiridamol		0.4%/ 0.2%	0.3%/ 0.1%	0.5%/ 0.3%	0.1938/ 0.1133
Otros		4.0%/ 2.4%	3.1%/ 1.8%	5.2%/ 3.2%	<0.0001/ 0.0013

* Incluye pacientes con la dosis establecida de Afro Americano, Indio Americano o Hispánico.

Tabla 2. Uso de Aspirina y Eventos de Seguridad Adversos entre los 5065 Pacientes del Estudio

5

EVENTO	Aspirina	Sin Aspirina	Valor P
Hemorragia			
Sangrado de Tracto gastrointestinal	1.1% (34)	2.0% (42)	0.0099
Sangrado de otra	1.7% (50)	3.4% (70)	<0.001

fuelle			
Regreso a sala de operación por sangrado	1.9% (57)	5.3% (109)	<0.0001
Gastritis	0.33% (10)	0.15% (3)	0.1941
Infección	8.4% (253)	12.8% (265)	<0.0001
Sanado de herida empeora	4.5% (134)	4.5% (92)	>0.9813

TABLA 3A. Análisis Multivariado por Mortalidad

Variable	Proporción de probabilidades	Intervalo confianza 95%	Valor P
Uso de aspirina después de revascularización	0.27	0.19-0.40	<0.0001
CABG Previo	3.07	1.91-4.93	<0.001
Creatinina mayor a 1.3 μ moles (adminsión)	2.76	1.94-3.92	<0.0001
Previo a hospitalización para Falla Cardíaca	2.14	1.42-3.22	<0.001

Falla Cardíaca (admisión)	1.99	1.40-2.83	<0.001
Angina inestable	1.71	1.20-2.43	0.003
Raza*	2.02	1.24-3.29	0.005
Warfarina/coumarina**	2.00	1.23-3.25	0.005
Bloqueo cardíaco (admisión)	1.57	1.06-2.32	0.025
Edad mayor a 70 años	1.48	1.05-2.09	0.026
BSA menor a 1.93 m ²	1.46	1.02-2.07	0.038

Incluye Afro americano, Indio Americano o Hispánico. **
Sobre la semana antes de revascularización

Tabla 3B. Análisis Multivariado por Mortalidad

Variable	Proporción de provabilidades	Intervalo confianza 95%	Valor P
Uso de Aspirina (admisión)	1.46	0.41-5.15	0.557
Uso de aspirina (antes de cirugía)	0.77	1.23-2.64	0.681
Interrupción de uso de aspirina	1.04	0.28-3.91	0.949
Uso de anti- plaquetas (admisión)	1.35	0.13-14.01	0.800
Uso de anti-	0.74	0.09-6.04	0.780

plaquetas (antes de cirugía)			
Interrupción de uso de anti-plaquetas	1.00	0.08-12.25	0.999

Meta estudio

Ejemplo: Efectos de Acadesina en Infarto al Miocardio, Derrame Cerebral y Muerte siguiente a Cirugía

Objetivo. Para terminar los efectos de una
5 purina nucleósido acadesina, en la insidencia de complicaciones fatales y no fatales cardiovasculares y cerebrovasculares después de cirugía de injerto de puente de arteria coronaria (CABG).

Fuentes de Datos. Datos de pacientes
10 individuales de 5 pruebas clínicas doble ciegas, controladas con placebo, al azar incluyendo 81 centros médicos internacionales de los E.U.A, Canadá y Europa.

Selección del Estudio. Todos los pacientes de todas las pruebas clínicas incluyeron: Un total de 4043
15 pacientes que se someten a cirugía CABG, evaluados por eficacia, y distribuidos al azar para recibir ya sea placebo (n=2031) o acadesina ($0.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$; n=2012) por infusión intravenosa por 7 horas continuas y mediante la solución de cardioplegia.

20 Extracción de Datos. Se recolectaron datos de paciente individual en forma de prospecto utilizando

formas estandarizadas y métodos y entrada de datos
dobles. Un enfoque paramétrico general y meta análisis-
por-paciente se emplearon, incluyendo tanto efectos fijos
como modelos de efectos al azar. Criterios de exclusión e
5 inclusión, metodología general y técnicas devaluación de
resultados con similares para todas pruebas.

Síntesis de Datos. La acadesina disminuye la
incidencia de resultado primario, infarto al miocardio
perioperatorio (MI) en 27% (relación de probabilidades
10 [OR], 0.69; 95% intervalo de confianza [CI], 0.51-0.95;
P=.02), disminuye la incidencia de muerte cardíaca hasta
el día post operativo 4 en 50% (OR, 0.52; 95% CI, 0.27-
0.98; P=.04), y disminuye la incidencia de resultado
combinado (MI, derrame cerebral o muerte cardíaca) en 26%
15 (OR, 0.73; 95% CI, 0.57-0.93; P=.01). Los modelos de
efectos aleatorios por estos resultados también dieron
resultados significantes. La incidencia de accidentes
cerebrovascular no se reduce significativamente por
acadesina (OR, 0.69; 95% CI, 0.44-1.08; P=.10). Un
20 análisis secundario de muerte cardíaca después de MI a
través de el día post operativo 4 demostró que la
acadesina disminuyó en 89% el numero de muertes de 13.3%
(13 muertes/98 MIs) en el grupo de placebo a 1.4% (1
muerte/71 MIs) en pacientes tratados con acadesina
25 (P=.003). La acadesina también redujo el uso de

dispositivo de asistencia ventricular para falla cardíaca post operativa severa en aproximadamente un tercio ($P=.05$). Finalmente, respecto a la seguridad, la incidencia de eventos adversos fue similar en los grupos de acadesina contra placebo, excepto por un incremento transitorio en ácido ubicó en suero.

Conclusiones. Los resultados de este metal análisis indican que en pacientes que se someten a cirugía CABG, tratamiento con acadesina antes y durante cirugía puede reducir la muerte cardíaca temprana, MI, y resultados cardiovasculares adversos combinados. JAMA 1996;277:325-332.

El número de pacientes que se someten a cirugía de injerto de puente de arteria coronaria o cirugía de revascularización (CABG) en todo el mundo se ha aumentado dramáticamente las últimas 2 décadas a más de 800,000 pacientes anualmente, con gastos de cuidado de la salud asociados que excedan los 20 mil millones de dólares. La mortalidad actualmente está en el rango de menos de 1% más de 8% y la morbilidad de 1% a 28%--incidencias que probablemente empeoran dado el envejecimiento continuó la población y la selección de pacientes con ritmo superior para este procedimiento. Esta manera, se espera que los costos de este resultado cardiovascular adverso, actualmente estimado en 4 mil millones de dólares

anualmente, continuará aumentando.

Aunque varios enfoques terapéuticos para reducir resultado adverso después de cirugía cardíaca se han sugerido, sólo un agente sea estudiado en pruebas clínicas a gran escala-acadesina, un análogo nucleósido de purina que aumenta selectivamente los niveles de adenosina en tejidos durante condiciones isquémica. En 81 centros internacionales, 5 pruebas en múltiples centros utilizando métodos razonablemente similares se ha realizado en más de 4000 pacientes CABG en los E.U.A., Canadá y Europa, investigando la seguridad y eficacia de acadessina utilizando en infarto del miocardio (MI), muerte cardíaca y derrame cerebral como resultados. Sin embargo, la magnitud real del efecto de acadessina en pacientes CABG fue difícil de estimar a partir de los resultados de cualquiera 1 de las 5 pruebas, ya que las pruebas fueron dotadas para detectar sólo tamaños de efecto de 50% o más. Menos de un efecto, aunque potencialmente terapéutico no pudo ser discernido por diseño. De acuerdo con esto, nosotros (la Ischemia Research and Education Foundation [IREF] y Multicenter Study of Perioperative Ischemia [McSPI]) decidimos combinar los datos de todas las 5 pruebas y aplicar un enfoque meta-analítico de análisis-por-por paciente como utilizando normas y métodos bien descritos, para lograr

el poder apropiado para detectar el tamaño defecto real y confiabilidad de reporte en eficacia y seguridad de acadesina. Esto es, utilizamos la experiencia clínica completa de acadesina en más de 4000 pacientes CABG para 5 determinar los efectos de estos resultados perioprati-
os tres clasificados agunlon de MI, derrame cerebral y muerte cardíaca.

Tabla 1. - Diseño de estudio*

Estudios (fechas)	Centros (No. de <u>pacientes</u>)	Brazos de estudio (no. de pa- <u>cientes</u>)	de agente	Criterios de entidad	Resul- tados de eficiencia primarios.
1013 (julio 1990-Mayo 1991)	4 E.U.A. (116)	Placebo (36) (41) (34) (5)	7 h LD continu as VHD intrave nosos 5 pg/mL solució n de cardiop legía	Pacientes de bajo riesgo o a moderado	Isquémica miocardíac o a
1016 (junio	20 E.U.A. (633)	Placebo (36)	7 h LD continu	Pacientes de bajo	MI combinados

ng

1991-		(214)	HD	as	moderado o
abril		(207)	VHD	intrave	alto
1992)				nosos	riesgo
				+	5
				pg/mL	
				solució	
				n	de
				cardiop	
				legía	
1017	27 Europa/	Placebo	7	h	Pacientes MI ,
(junio	Canadá	(418)	LD	continú	de bajo combinados
1991-	(821)	(403)		as	moderado o
junio				intrave	alto
1992)				nosos +	riesgo
				5 pg/mL	
				solució	
				n	de
				cardiop	
				legía	
1023	1 Europa	Placebo	7-h		Pacientes MI ,
(junio	(38)	(20)	LD	continú	de bajo combinados
1991-		(18)		as	moderado o
junio				intrave	alto
1992)				noso	riesgo
1024	54 E.U.A./	Placebo	7-h	h	Pacientes MI ,

(marzo Canadá (1346) LD continu de bajo COMBINADOS
1993- (1352) as moderado o
septiembr intrave alto
e 1994) nosos + riesgo

5 5 pg/mL

 solu-

 ción de

 cardiop

 legía

* Pruebas todas fueron al azar, controladas por placebo y doble-ciego. Todos los pacientes se sometieron a cirugía CABG.

+ LD indica bajar dosis (0.05 mg·kg⁻¹ de acadesina); HD
5 alta dosis (0.01 mg·kg \ min⁻¹ de acadesina); VHD, muy
alta dosis (0.19-0.38 mg. kg ".min⁻¹ de acadesina); +
pacientes excluidos con CABG repetido, falla de
angioplastia coronaria trnsluminal percutánea aguda,
angina inestable y función ventricular izquierda
10 deficiente.

§ resultados combinados incluyen MI, muerte cardíaca, derrame cerebral, falla cardíaca congestiva severa y disrritmias que amenazan la vida.

1. Métodos a. Estructura General de pruebas
15 Individuales

Meta análisis incluye todos los pacientes que

se someten a cirugía CABG en los E.U.A., Canadá y Europa que han recibido acadesina a una dosis de $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$, ningún paciente que satisfacen estos criterios por excluidos. Todos los 5 estudios fueron al azar, controlados por placebo, doble ciego, y realizados con aprobación de las 81 instituciones McSPI participantes y con consentimiento informado del paciente. Criterios de inclusión y exclusión, métodos generales y técnicas de evaluación de resultados con similares para todas las pruebas, con varias excepciones (Tabla 1). Vale la pena notar que la prueba fase 2 1013 y la prueba fase 3 1016 incluye 3 grupos de prueba, placebo, acadesina de baja dosis ($0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), y acadesina de alta dosis ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$), pero los resultados demuestran que aún que acadesina de baja dosis es segura, parece ineficaz para reducir el resultado, y excluimos los datos de baja dosis ($n = 41$ en prueba 1013; $n = 214$ en prueba 1016) de meta análisis. Para todos los pacientes, la profármaco de estudio ciego (acadesina o placebo) se administro intravenosamente, empezando aproximadamente 15 minutos antes de inducción de anestesia y continuando por un total de 7 horas para incluirlos períodos intra operativos (pre-puente y post-puente) y post operativo inmediato (a la unidad de cuidados intensivos). Para todos los estudios (excepto la prueba 1023 [$n = 38$], que no

utiliza cardioplegia), la solución de cardioplegia empleada para protección de miocardio durante puente cardiopulmonar contiene acadesina a una concentración de 5 p.g./Ml para pacientes al azar para recibir acadesina o placebo (agua estéril para inyección) para aquéllos al azar que reciben placebo.

b. Protocolo de Estudios.

Antes de cirugía, los investigadores evaluaron la historia cardíaca y registraron la información de cateterización cardíaca. El uso de agentes que potencialmente afectan la concentración endógena de adenosina (que puede complicar el análisis de eficacia) fue restringido, incluyendo dipididamol, teofilina, adenosina y pentoxifilina. Todos los medicamentos cardiovasculares crónicos incluyendo nitratos, β -bloqueadores y bloqueadores de canal de calcio, se continuaron hasta el tiempo de cirugía. Durante cirugía, pero antes de puente, los monitores usuales aplicaron, técnicas anestésicas fueron normalizadas y variables hemodinámicas (presión sanguínea, ritmo cardíaco) se mantuvieron dentro de las fronteras específicas para las pruebas 1013, 1016 y 1023; para las pruebas 1023 y 1017, guías para uso anestésico y control hemodinámica se recomendaron. Para todos los estudios, uso profiláctico de gentes cardiovasculares que tienen propiedades

antisemitas potenciales (nitratos, bloqueadores de canal calcio) se excluye específicamente para evitar confundir la interpretación de datos. Durante puente cardiopulmonar, ni la técnica de cirugía ni los procedimientos de puente (incluyendo administración de cardioplegia) se controlaron para las pruebas fase 3, y de puente típicamente se realizó utilizando u oxigenador la membrana y filtro arterial con hemodilución y moderada hipotermia sistémica. Después de puente, el uso de agentes inotrópicos y vaso dilatado horas (excluyendo el uso profiláctico de medicamentos anti isquémicos) y tratamiento de isquémica químicamente detectada, no se controló; todos los medicamentos administrados fueron registrados.

15 c. resultados

Para todos los estudios, el resultado primario, MI, y otros resultados secundarios por devaluados invalidados por los investigadores del centro de coordinación IREF ciegos identidad de paciente y asignación de grupo. Resultados secundarios incluyen muerte cardíaca, derrame cerebral, disrritmia que amenaza la vida y severa falla cardíaca (Tabla 1). Para MI, se codificaron repetidos electrocardiogramas (ECGs) centralmente por investigadores núcleo utilizando el criterio del código Minnesota. Concentraciones de

creatina cinaza -MB (CK-Ml 3) se muestran aproximadamente 18 veces durante los primeros cuatro días post operativos y para estudios hace tres, se analizaron centralmente utilizando un ensayo inmunoenzimetrico (Hybritech Tandem-
5 E CK-MB II, SmithKline Beecham, VanNuys, Calif.). La presencia de infarto penal autopsia se basa en datos patológicos de la institución respectiva y confirmado centralmente por el Endpoint Committee. Accidente cerebrovascular (CVA) y diagnóstico por el neurólogo en
10 institución respectiva y requirió que signos y síntomas de un defecto focal significativa persistiera por más de 24 horas posterior operación. El diagnóstico de CVA en la presencia de signos clínicos no focales requirió exploración tomográfica computarizada o resultado de
15 formación de imagen por resonancia magnética consistente con un nuevo en factor cerebro. Los resultados muerte cardíaca y CVA se validaron por 2 investigadores IREF independientes ciegos a la asignación de grupo de pacientes, con conflictos resueltos por un tercer
20 investigador, predomina la opinión de la mayoría. Un panel de supervisión de datos y seguridad independiente revisó todos los datos seguridad en una base continua por cada una de las pruebas fase 3 y supervisó las reglas de parada P.-especificadas para cada prueba.

Tabla 2 – Características del Paciente*

	Estudio 1013		Estudio 1016		Estudio 1017
	Placebo (n = 36)	Acadesina (n = 34)	Placebo (n = 212)	Acadesina (n = 207)	Placebo (n = 418)
Demográficos	64	62	63	63	61
edad promedio, y					
Femenino, %	8	6	19	18	17
Historia	41	40	40	42	31
médica angina inestable, %					
Hipertensión, %	68	54	61	59	43
MI Previo, %	46	51	51	51	56
CHF, %	0	0	10	13	3
Arritmias, %	11	11	15	17	12
Murmullo	8	23	10	13	5
Carótido, %					
CABG Previo, %	0	0	11	8	3
PTCA Previo, %	0	0	12	14	8
Cateterización	58±11	60±13	56±15	56±15	56±15
EF,					

promedio±SD, %					
% Principal	22	26	17	19	18
izquierdo> 50%					
+					
% >2, >70%	...	...	92	93	93
Vasos con	4.1±1.7	3.5±1.0	6.0±2.9	5.9±2.9	5.9±2.8
estenosis, No.					
Cristaloide	100	100	97	97	75
que contiene					
Tipo					
cardioplegia,					
%					
Contiene	0	3	70	69	27
sangre %					
Contiene	0	0	3	5	0
coloide, %					
Sangre sola, %	0	0	2	3	17
duración de	6.6±1.2	6.7±1.2	7.0±0.7	7.0±0.4	7.1±0.6
infusión de					
Acadesina,					
prom.±SD,					
H	2	2	7	4	6

Tabla 2 Continua

Estudio	Estudio 1023	Estudio 1026
---------	--------------	--------------

	1017				
	Aca- desina (n = 403)	Placebo (n = 20)	Aca- desina (n = 18)	Placebo (n = 1346)	Aca- desina (n = 1352)
Demográficos	61	65	65	63	63
edad					
promedio, y					
Femenino, %	16	30	44	21	19
Historia	30	100	100	31	31
médica angina					
inestable, %					
Hipertensión,	41	35	50	59	58
%					
MI Previo, %	56	25	39	54	54
CHF, %	5	5	0	12	9
Arritmias, %	12	15	22	17	17
Murmullo	4	25	22	...	...
Carótido, %					
CABG Previo,	4	0	0	8	7
%					
PTCA Previo,	7	5	17	13	14
%					
Cateteriza-	57±15	63±13	65±12	...	...
ción EF					

% Principal	15	25	28	22	21
izquierdo>					
50% +					
% >2, >70%	94	90	94	94	94
Vasos con	5.8±2.7	8.8±2.6	8.6±2.	...	...
estenosis,			7		
No.					
Cristaloide	7	...	...	...	...
que contiene					
Tipo					
cardioplegia,					
%					
Contiene	25	...	...	85	85
sangre %					
Contiene	0	...	...	...	...
coloide, %					
Sangre sola,	15	...	...	...	...
%					
duración de	7.1±0.6	7.0±0.0	7.0±0.	7.0±0.6	7.0±0.
infusión de			0		5
Acadesina,					
prom.±SD,					
H	6	0	0	6	5

* MI Indica infarto al miocardio; CHF, falla cardíaca

coronaria; CABG, injerto de puente de arteria coronaria; PTCA, angioplastia coronaria transluminal percutánea; elipses, datos no disponibles; y EF, fracción de expulsión. Por ciento de pacientes con arteria principal
5 izquierda con estenosis 50% o más. Por ciento de pacientes con 2 vasos o más con estenosis 70% o más.

d. Análisis estadísticos y datos

El punto extremo para meta-análisis se definió en forma prospectiva antes de análisis con el resultado
10 primario que es MI y con resultados secundarios que son muerte cardíaca, derrame cerebral y el resultado cardiovascular adverso combinado de MI, muerte cardíaca o derrame cerebral. Para cada prueba, MI se diagnosticó con base a la presencia ya sea de una nueva onda Q en
15 EGG, y que satisface los criterios CK-MB especificados por protocolo, o la presencia de evidencia de autopsia de infarto.^{11,13-16} criterio de Creatina cinasa-MB para las pruebas generalmente fue (1) concentración CK-MB de 100 ng/mL o más en cualquier tiempo con un valor o frontera
20 de 50% o más; (2) concentración CK-MB de 70 ng/mL o más en cualquier tiempo después de 12 horas post-operativamente con un valor frontera de 50% o más; O (3) concentración CK-MB de 12 ng/mL o más después de 24 horas con un valor frontera de 10 ng/mL o más (para la prueba
25 1013, el criterio fue CK-MB que excede 50 U/L¹¹; y para la

prueba 1024,¹⁵ la tercer condición no se utilizó). Una serie de otros resultados pre-especificados también se evaluaron, incluyendo muerte cardíaca después de MI, muerte cardíaca tardía (hasta el día post-operativo 28),
5 toda causa de mortalidad (hasta el día post-operativo 4 y hasta el día post-operativo 28), y puntos extremo combinados utilizando muerte cardíaca tardía y una mortalidad de toda causa.

De los 4311 pacientes en las 5 pruebas
10 clínicas, 265 se excluyeron de meta-análisis: 255 recibieron baja dosis de acadesina ($0.05 \text{ mg}\cdot\text{kg}/\text{min}^{-1}$) en las pruebas 1013 y 1016, 5 recibieron acadesina muy alta dosis ($0.19\text{-}0.38 \text{ mg}\cdot\text{kg}/\text{min}^{-1}$) en la prueba 1013, y 5 no se evaluaron por MI en la prueba 1016 (1 paciente de placebo
15 y 4 pacientes de alta dosis de acadesina) (Tabla 1). Meta-análisis por paciente se realiza utilizando los métodos descritos en Whitehead and Whitehead¹⁹ y Yusuf et al.²⁰ Un estimado de la relación de probabilidades log que compara la proporción de eventos de resultados en el
20 grupo de acadesina con el del grupo de placebo se calcula para cada estudio, tomando en cuenta la información de cada paciente individual en grupo de riesgo y centro de tratamiento. El promedio ponderado de las proporciones de probabilidades log después se calcula utilizando las
25 inversas de variancias estimadas. Para todos los casos,

se utilizó un modelo de efectos fijo, con la adición de un modelo de efectos al azar cuando la heterogeneidad entre estudios fue significativa. Debido a que la prueba 1024 empleó un diseño secuencial para analizar MI, el estimado de la proporción de probabilidades log fue sesgado, requiriendo que se calculara (utilizando el paquete de programa PEST 3.0²¹), un estimado ajustado que toma en cuenta el procedimiento de parada. La homogeneidad del efecto de tratamiento a través de los estudios se prueba utilizando la Q estadística descrita en Whitehead and Whitehead,¹⁹ en donde un hallazgo de un valor P significativa indica que el efecto de tratamiento no es constante a través de los estudios. Cuando esto ocurre, aplicamos un modelo de efectos al azar para derivar un estimado del componente de variancia entre estudios utilizando el método de momentos.¹⁹ Para el análisis de datos de supervivencia, el método límite producto Kaplan-Meier²² se empleó para comparar la 2 distribuciones de supervivencia (acadesina contra placebo).

2. RESULTADOS

Un total de 4043 pacientes se incluyó en el meta-análisis con 2031 que recibe un placebo y 2012 que reciben acadesina ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$). Pacientes en los grupos de placebo y acadesina tuvieron historias médicas

cardíacas similares, hallazgos de cateterización cardíaca pre-operativa, tipos de cardioplegia y duraciones promedio de infusiones de placebo y acadesina (Tabla 2).

a. Eficacia

5 Infarto al Miocardio. El infarto al miocardio, el resultado de eficacia primaria, se determina por la presencia de una nueva onda Q y concentraciones CK-MB que exceden límites definidos por protocolo, o evidencia de autopsia de MI. En cada una de las 5 pruebas clínicas,
10 la incidencia de MI fue menor en el grupo de acadesina que en el de placebo (Figura 1), pero esta diferencia fue significativamente solo en la prueba fase 3 1016.¹⁴ La prueba para homogeneidad a través de estudios relevó que no hubo heterogeneidad significativa ($P=.39$), resultando
15 en el uso de solo el modelo de efectos fijos para analizar resultados MI combinados. La acadesina reduce la incidencia de infarto por 27% desde 4.9% a 3.6% (relación de probabilidades [OR], 0.69; 95% intervalo de confianza [CI], 0.51-0.95; $P=.02$), como se anota en la
20 Figura 1, con las CI, con base en el análisis por paciente (no en los datos combinados). También, la incidencia de MT definidas por autopsia fue menor en pacientes tratados con acadesina (16/19 pacientes de placebo contra 2/11 pacientes de acadesina, $P=.001$).

5

10

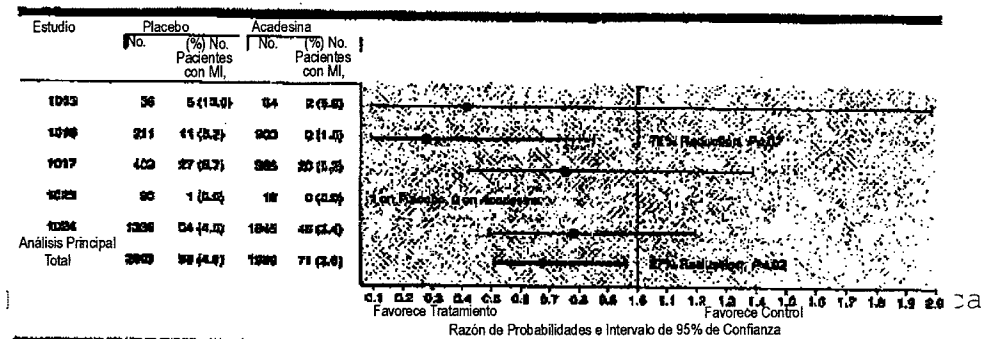


Figura 1.- Resultados de Infarto al Miocardio (MI) para pruebas individuales y meta-análisis por paciente. Las barras indican 95% intervalos de confianza para razón de probabilidades

hasta el momento de la prueba operativa de menor en pacientes tratados con acadesina en cada estudio (excepto prueba fase 2 1013, que no tuvo muerte cardíacas) y disminuyó en 50% en la población total, de 26 a 13 muertes (OR, 0.52; 95% CI, 0.27-0.98; P=.04). La prueba para homogeneidad no fue significativa (P=.06), resultando en el uso de solo el modelo de efectos fijos.

20

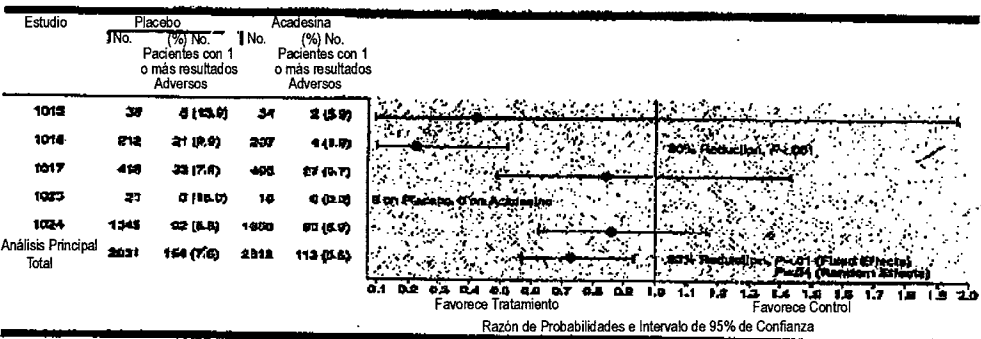


Figura 2.- Resultados Cardíacos Adversos combinados, infarto al miocardio, muerte cardíaca o derrame cerebral/accidente cerebrovascular para pruebas individuales y meta-análisis por paciente. El rango de error incluye intervalos de confianza del 95% en la razón de probabilidades.

25

Derrame cerebral (CVA). El número de pacientes con CVA fue menor en el grupo de acadesina que el grupo de placebo para cada prueba, excepto la prueba 1013, que no
5 reporta ningún derrame cerebral. Las pruebas para homogeneidad entre estudios dieron por resultado hallazgos marginales ($P=.18$); por lo tanto, los resultados se analizaron utilizando tanto los modelos de efectos aleatorios como fijos. La incidencia de CVA fue
10 2.3% (47/2031) en el grupo de placebo contra 1.6% (32/2012) en el grupo de acadesina, que no fue estadísticamente significativa utilizando ya sea el modelo de efectos fijos ($P=.10$) o el modelo de efectos al azar ($P=.12$).

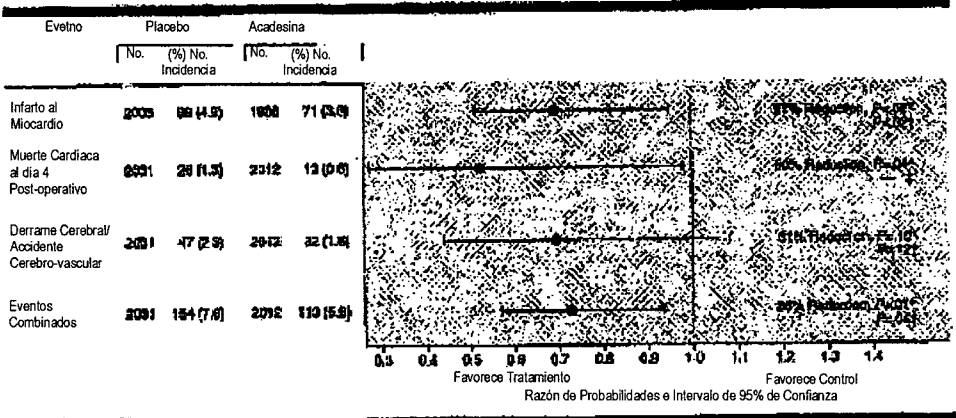
15 **Resultados Cardiovasculares Adversos (MI, CVA, o Muerte Cardíaca).** El número de pacientes con 1 o más resultados cardiovasculares adversos hasta el día postoperativo 4 fue consistentemente menor en el grupo de acadesina que en el grupo de placebo en cada prueba
20 (Figura 2). La prueba para homogeneidad fue estadísticamente significativa ($P=.02$), y se emplearon tanto modelos de efectos fijos como aleatorios como se pre-especifica por diseño de estudio y protocolo. El tratamiento con acadesina disminuyó, en 26% la incidencia
25 de resultado combinado de 76% a 5.6% (modelo de efectos

fijos, $P= 01$, modelo de efectos aleatorios, $P=.04$), como se ilustra en la Figura 2. Resultados de meta-análisis para las variables de resultados primarios y secundarios se resumen en la Figura 3.

5 b. Otros Resultados

Muerte Después de MI. El infarto al miocardio ocurrió en 71 pacientes que se les suministró acadesina contra 98 que se les suministró placebo (Tabla 3). De los 71 pacientes con MI en el grupo de acadesina, 1
10 paciente (1.4%) tuvo muerte cardíaca en los primeros 4 días después de cirugía, contra 13 pacientes (13.3%) en el grupo placebo (reducción 89%; $P= 003$). La incidencia de muerte cardíaca en los primeros 4 días después de cirugía fue similar en pacientes sin MI, o no se evalúa
15 para MI, en ambos grupos 0.6% en pacientes tratados con acadesina contra 0.7% en tratados con placebo.

20



25

Figura 3.

Tabla 3 - Muerte Después de Infarto al Miocardio

	Placebo (n=98), No. %	Acadesi -na (n=71), No. %	Reduc -ción %	Propor- ción de proba- bilida- des	Inter- valo de Con- fianza al 95%	Va- lor P*
Muerte cardíaca al día post- operativo 4	13 (13)	1 (1)	89	0.185	0.061- 0.556	.00 3
Muerte cardíaca al día post- operativo 28	20 (20)	3 (4)	79	0.240	0.098- 0.585	.00 2
Muerte por día post- operativo 4	13 (13)	2 (3)	79	0.243	0.084- 0.708	.00 9
Muerte por el día post- operativo	21 (21)	4 (6)	74	0.272	0.115- 0.644	.00 3

* valores P determinados utilizando la prueba Cochran-Mantel-Haenszel

Supervivencia. Pacientes en el grupo de acadesina
5 tuvieron supervivencia incrementada hasta el periodo de
observación (Figura 4), con la mayoría de las muertes en
ambos grupos de tratamiento que ocurren los primeros 4
días después de cirugía. El efecto de supervivencia
primario de acadesina parece ser en la muerte después de
10 MI (13 pacientes con placebo contra 1 paciente de
acadesina) y muerte cardíaca dentro de los primeros 4
días después de cirugía (26 pacientes de placebo contra
13 pacientes de acadesina).

Muerte cardíaca a 28 días también se redujo (34
15 pacientes de placebo contra 20 pacientes de acadesina);
la acadesina no tuvo efecto en muerte no cardíaca.

20

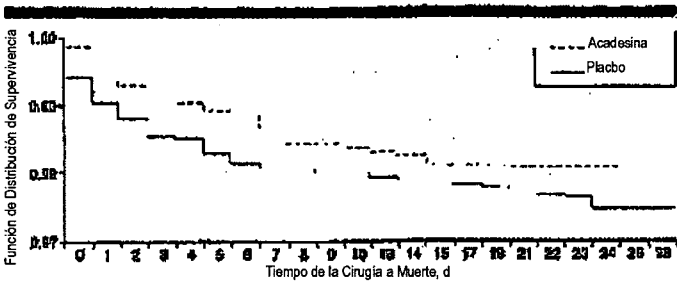


Figura 4. Análisis de supervivencia que compara pacientes tratados con acadesina con pacientes tratados con placebo

Seguridad. La incidencia de serios eventos

adversos generalmente fue similar para los grupos de acadesina y placebo en ambos estudios individuales y a través de todos los estudios, es decir 9.1% (n=1 84/2014) en el grupo de acadesina y 9.0% (n=1 82/2032) en el grupo de placebo. (Hay que notar que hubo 3 pacientes más incluidos en el análisis de seguridad [un total de 4046 pacientes] contra 4043 pacientes que se evalúan por eficacia). Sin embargo, la falla cardíaca, que era inmediatamente amenaza a la vida u hospitalización prolongada, se redujo en aproximadamente un tercio (placebo, 3.2% [66/2032]; acadesina, 2.1% [43/2014]; $P = 03$), y el uso de bomba de globo intraaórtico se redujo de 3.5% (70/2025 que se evalúa para este punto extremo) en pacientes tratados con placebo a 2.4% (48/2006) en pacientes tratados con acadesina ($P = .049$).

3. COMENTARIO

Nuestra meta-análisis de la experiencia clínica total a la fecha con acadesina en pacientes que se someten a cirugía CABG soporta la hipótesis de que la acadesina reduce la incidencia de pre-operativo MI, muerte cardíaca temprana y resultados cardiovasculares adversos combinados (MI, muerte cardíaca, derrame cerebral). Específicamente, el tratamiento con acadesina disminuye significativamente MI en 27%, resultados combinados en 26%, y muerte cardíaca en 50%. Estos

resultados demuestran por primera vez que severa lesión de miocardio asociada con la cirugía de puente y repercusión coronaria pueden evitarse y además, se sugiere un novedoso enfoque farmacológico – modulación del nucleósido acadesina natural.

a. Significancia de la Pregunta y Resultados de Prueba Individuales

A pesar de avances en las técnicas anestésicas y quirúrgicas, la morbilidad y mortalidad asociadas con cirugía CABG continúan aumentado debido a cambios en la demografía de pacientes, es decir pacientes ahora son más viejos y más enfermos, que a menudo ha tenido cirugía CABG previa o angioplastia con falla aguda.^{1-7,26-28} Proporciones Mi perioperativas reportadas están en el rango de 1% a 15% o más, proporciones de muertes cardíacas de 0.5% a 8.0%, y proporciones de derrame cerebral de 2% a 6%.^{1,2-7,26-28}

Intervenciones farmacológicas dirigidas a mitigar resultados adversos asociados con cirugía CABG se han investigado en una serie de pruebas más pequeñas, enfocándose primordialmente en sustitutos de estos resultados como los puntos extremo primarios. Nitratos, β -bloqueadores, y bloqueadores de canal calcio se han recomendado, pero no se han aceptado ampliamente debido a que los hallazgos preliminares no pudieron

confirmarse.^{1,7,8} Diversas técnicas de conservación de miocardio también se han sugerido para reducir los resultados; sin embargo, los hallazgos se basan en estudios fisiológicos relativamente pequeños,²⁹⁻³¹ sin confirmación en pruebas de resultados a gran escala.

El interés en adenosina³² y agentes que regulan adenosina (acadesina)^{9-11,13-15,38,35} para mitigar isquemia, combinado con hallazgos de eficacia de acadesina en animales tratados bajo condiciones de puente,^{36,37} llevan a nuestro desarrollo de una serie de pruebas clínicas fase 2 y fase 3. En compuesto, este meta-análisis involucró 4043 pacientes, 2031 de los cuales reciben placebo, y 2012 de los cuales reciben acadesina de alta dosis ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$). A la fecha este programa constituye el conjunto más grande de pruebas-dirigidas a reducir la morbilidad y mortalidad cardiovascular después de cirugía cardíaca.

Pruebas Individuales. La prueba fase 2 1013 demostró que acadesina reduce incidencia y severidad de marcadores para isquemia perioperativa y con base en estos hallazgos, desarrollamos dos pruebas fase 3 (1016 y 1017) para investigar la eficacia de alta dosis de acadesina para evitar MI.^{13,14} perioperativa. Ambos estudios fueron diseñados para detectar tamaño de efecto de 50% (con base en el tamaño de efecto indicado por la

prueba fase 2 1013) con 80% de potencia ($b=0.2$) y un nivel de significancia 0.05, ajustado para múltiples comparaciones. Aunque ninguna prueba demostró que acadesina reduce significativamente la incidencia de MI definido por protocolo, las pruebas proporcionaron percepción única en los marcadores bioquímicos para infarto de onda no Q, encontrando liberación substancial de CK-MB en estos pacientes (17% de pacientes tuvieron concentraciones CK-MB que exceden 100 ng/mL después de cirugía^{13,14,27}), probablemente que representan mecánicas y otras lesiones asociadas con cirugía, en vez de lesión isquémica irreversible. De acuerdo con esto, el seleccionar una definición más específica y conservadora de MI reducirá la contribución de "interferencia CK-MB".

Desarrollado post hoc para la prueba 1016, la definición de MI obligan la presencia tanto de una onda Q electrocardiográfica como liberación CK-MB de límites pre-especificados o evidencia de autopsia de infarto¹⁴. Con esta definición, el análisis reveló una proporción de infarto significativamente menor (1.5%) en pacientes que se les proporciona acadesina que aquellos que reciben placebo (5.2%; $P=.02$), así como menores proporciones de derrame cerebral (0.5% vs 4.2%; $P=.02$) y resultado cardiovascular adverso combinado (MI, CVA o muerte cardíaca) (1.9% vs 9.9%; $P=.004$). Finalmente, un pequeño

estudio (prueba 1023) se realiza en 38 pacientes de CABG y demostró que la acadesina mejora la función ventricular después de puente.¹⁶ Consecuentemente, desarrollamos una tercera prueba fase 3 mayor (1024) que se conduce en 2698 pacientes de 54 centros. Con base en los hallazgos del tamaño del efecto en la prueba 1016, la prueba 1024 se potenció estadísticamente para detectar un tamaño de efecto del 50% con una potencia del 95% a un nivel de significancia de 0.05.¹⁵ Resultados revelaron que la acadesina redujo, pero no en forma significativa la proporción de MI, derrame cerebral, muerte cardíaca, y resultados combinados (Figuras 1, 2).

Raciocinio para el Meta-análisis. Los hallazgos de las pruebas fase 3 demostraron en forma convincente que el diseño de estudio inicial que mandó un tamaño de efecto de 50% aunque se base en pruebas más pequeñas previas, sobreestimó el tamaño de efecto. Dados tamaños de efectos para MI de 73% para la prueba 1016 (n=414),¹⁴ 23% para la prueba 1017 (n=821),¹³ y 22% para la prueba 1024 (n=2698)¹⁵, un estimado más razonable de tamaño de efecto puede ser de 20% a 25%. Por ejemplo, a pesar de la participación de pacientes 2698, la prueba 1024 tuvo poca potencia ($\beta > 0.4$) para detectar un tamaño de efecto inferior a 35%,³⁸ y para detectar un defecto del 25% en esa prueba hubiera requerido aproximadamente tres

veces el número de pacientes participantes (pacientes 8757).²¹ La revisión de las 3 pruebas de fase 3 mayor (1016, 1017, 1024) reveló otro hallazgo importante: de las 3 variables de resultados (MI, CVA, muerte) estimadas en las 3 pruebas, la incidencia de estos 3 resultados individuales fue uniformemente inferior (11%- 89%) en pacientes tratados con acadesina con significancia estadística que se logra para la mayoría de estas comparaciones a pesar de tamaño de muestra limitado.

10 b. Hallazgos de Meta-análisis

[00786] Infarto al miocardio. Varios estudios previos han atendido la eficacia de agentes anti-izquémicos y técnicas de conservación de miocardio. Sin embargo, la mayoría de los estudios incluyen sólo un número limitado de pacientes y miden sólo substitutos de resultados.^{1,7,8,20,31} Ningún conjunto previo de pruebas ha sido suficientemente grande para examinar efectos en MI, haciendo al presente conjunto único. Adicionalmente, los hallazgos positivos de este meta-análisis y los datos de soporte en las pruebas individuales,^{11, 13-16} demuestran que la intervención farmacológica puede evitar MI asociado con cirugía CABG. Este hallazgo es importante, debido a que la lesión e infarto se inducen durante CABG por insulto isquémico profundo (oclusión completa de flujo coronario) que dure 45 minutos o más, y la posibilidad de

que terapia farmacológica pueda mitigar los efectos de este insulto mecánico dramático permite mayor exploración de nuevos enfoques a esta lesión.⁸ Estos resultados también sugieren que no solo un agente específico, acadesina, puede mitigar la lesión sino también que una clase de agentes que conservan adenosina en tejido isquémico pueden tener ventajas específicas en este ámbito clínico importante.³² Estos hallazgos son consistentes con datos de laboratorio y animales sugiriendo efectos benéficos en función ventricular postreperfusión,^{39,40} disritmia ventricular,^{9,41} adherencia a plaquetas,^{42,48} acumulación de granulocitos,^{9,44} y otros fenómenos.^{36,37,45} Sin embargo, los presentes resultados no nos permiten discernir cuales, de haber de estos mecanismos aplican en humanos. Finalmente, habrá de reconocerse que la definición de MI en este programa fue bastante específica, obligando tanto a la presencia de onda Q como liberación CK-MR substancial. Dado que estos infartos siguen cirugía CABG pueden estar asociados con un pronóstico de largo plazo más deficiente (es decir incrementadas muertes MI recurrente),^{46,47} entonces se puede teorizar que la acadesina puede tener un efecto a largo plazo benéfico, dictando mayor estudio.

Mortalidad. La supervivencia se mejoró en resultados tratados con acadesina (Figura 4), con el

efecto predominante en muerte cardíaca temprana (≤ 4 días) (26 vs 13 pacientes). Además, los resultados del análisis secundario para determinar el efecto de acadesina en muerte post MI demostraron una reducción de 74% de estas muertes (4/71 de pacientes tratados con acadesina contra 21/98 en el grupo de placebo; $P=.003$), soportando la premisa de que la acadesina reduce la incidencia de muerte siguiendo a MI. Esto sugiere que la acadesina no sólo reduce la incidencia sino también la extensión de infarto y probablemente el impacto de impacto en miocardio post-puente, como se mide ya sea por marcadores bioquímicos, (liberación de CK-MB) o mortalidad post-MI. Finalmente, la acadesina no parece tener un efecto substancial en muerte no cardíaca.

Resultados Cardiovasculares Combinados.

El meta-análisis demostró que acadesina disminuyó la incidencia de resultados cardiovasculares combinados de MI, muerte cardíaca, y derrame cerebral en 26%: esto es, 41 menos pacientes en el grupo de acadesina sufrieron un resultado adverso (Tabla 3). Esta reducción en resultados combiandos de 7.6% a 5.6% sugiere que el uso de acadesina evitará resultados adversos en aproximadamente 20 de cada 1000 pacientes que se someten a cirugía CABG, o 16000 pacientes por año, de esta manera también reduciendo la utilización de recursos y costos de

hospital asociados.^{1,7}

Otros hallazgos, con base en los datos de seguridad, la administración de acadesina a una dosis de $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ por 7 horas a pacientes que se someten a cirugía CABG es segura, excepto por una hiperuricemia transitoria que alcanza pico al final de la infusión, pero se resuelve durante permanencia en el hospital sin secuelas clínicas.¹⁴ A diferencia de adenosina,³² acadesina no afecta la presión sanguínea o la conducción eléctrica cardíaca. Otro hallazgo de seguridad fue la menor incidencia de uso de bomba de globo intra-aórtico y seria falla cardíaca con acadesina que es consistente con recientes hallazgos que demuestran mejorada función ventricular izquierda en el periodo post-puente inmediato en pacientes tratados con acadesina.¹⁶ función ventricular mejorada después de puente puede ser el mecanismo por el cual la acadesina mejora la supervivencia después de MI. Finalmente, también encontramos que la infusión de acadesina de baja dosis ($0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ min}^{-1}$), aunque es segura, no tuvo efecto significativo en ninguna medida de resultados.

Fuerzas y limitaciones del Meta-análisis. Resultados de 5 pruebas individuales de más de 4000 pacientes sugieren un efecto real de acadesina en MI, muerte cardíaca y derrame cerebral. Nuestra decisión en

combinar los datos de todas las pruebas y aplicar un enfoque de meta-análisis para evaluar los efectos conservadores de miocardio o anti-isquémicos de acadesina en pacientes CABG se basa en los resultados observados y la necesidad subsecuente por superar la especificación de criterios que requieren tamaños de efecto del 50% en todos los diseños de estudio fase 3. Factores que soportan uso válido de meta-análisis incluyen homogeneidad a través de los estudios, tales como población de pacientes, criterios de inclusión y exclusión, diseños clínicos, técnicas de difusión de profármaco, mediciones de variables de resultados y periodos de tiempos de estudio.^{19,48,50} Aún más, estuvieron disponibles datos de todo paciente que se somete a cirugía CABG, que han recibido alguna vez acadesina (0.1 mg·kg⁻¹ min⁻¹); de esta manera, todas las pruebas, ya positivas o negativas pueden ser incluidas. También, análisis por paciente individual puede ser y se realizó y este análisis se considera que es más preciso.^{17,18} Finalmente, todos los estudios se completaron sobre un periodo de tiempo relativamente breve de 4 años.

Una cantidad de limitaciones sin embargo pueden estar asociadas con meta-análisis.^{19,20,48,54} Primero está la selección no aleatoria de estudios^{19,49,52} que no es relevante para el presente análisis debido a que

incluimos a todos los pacientes que han recibido acadesina y se han sometido a cirugía CABG. En segundo están múltiples pruebas de los mismos datos,^{19,52} que aplican debido a que analizamos los datos de cada una de las 5 pruebas individualmente, después de nuevo utilizando meta-análisis, pero las estadísticas paramétricas standard que empleamos parecen ser suficientemente robustas para superar esta limitación. En tercero es el sesgo de selección⁵³ aquí excluido debido a que incluimos a todos los pacientes. En cuarto está la variabilidad o no homogeneidad a través de los estudios,^{19,49,52} que es pertinente al presente análisis (Tabla 1). Sin embargo, no es claro que ninguna de estas diferencias afectan los resultados observados. El efecto de confusión potencial de factores tales como técnica de anestesia o cardioplegia, en el análisis se encontró que es mínimo; investigación estadística formal de homogeneidad de resultados a través de estas pruebas reveló no homogeneidad sólo para el resultado adverso combinado y en este caso, tanto los modelos de efectos al azar como fijos dieron resultados similares.

4. CONCLUSIONES

Examinamos toda la experiencia clínica de acadesina en cirugía CABG, consistiendo de 5 pruebas multicentro que tienen métodos razonablemente similares.

Los resultados de este meta-análisis de más de 4000
pacientes indican que el tratamiento con adenosina (0.01
 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ suministrado intra-venosamente antes de y
durante cirugía sólo con una concentración fija de 5
5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en solución de cardioplegia) puede reducir MI
perioperativa, muerte cardíaca y resultados
cardiovasculares adversos combinados.

Estudio combinado de compuestos relacionados a
adenosina es necesario para definir estos sub-grupos de
10 pacientes que se someten a revascularización de miocardio
que pueden beneficiarse específicamente de estas
terapias, de esta manera permitiendo un gasto apropiado
del cuidado de la salud; las investigaciones en otros
ámbitos clínicos de lesión de percusión también pueden
15 garantizarse.

Soporte de subvención para este meta-análisis y
las publicaciones asociadas se proporcionan por la
Ischemia Research and Education Foundation (IREF) and
Gensia Pharmaceuticals, Inc. No hubo otras relaciones
20 financieras entre los investigadores, la unidad de
análisis central (IREF), y Gensia Pharmaceuticals, Inc.
Los resultados de este meta-análisis y su interpretación
son solo aquellos de los investigadores y IREF, y los
resultados son sin interpretación o aprobación por Gensia
25 Pharmaceuticals, Inc.

El grupo de investigación de Multicenter Study of Perioperative Ischemia (McSPI) es un consorcio de investigadores de aproximadamente 150 centros médicos mundiales que se enfocan en los problemas de infarto al miocardio perioperativo, derrame cerebral, disfunción renal, así como otra disfunción de órgano y las implicaciones de estas enfermedades para economía de salud. La Ischemia Research and Education Foundation es una fundación no lucrativa dedicada a investigación de múltiples centros en estas áreas y está cercanamente afiliada con los investigadores de McSPI y sus instituciones.

Para las 5 pruebas individuales, los grupos de coordinación y análisis y las juntas de supervisión de datos y políticas se han citado previamente.¹¹⁻¹⁶

Referencias

1. Mangano DT. Perioperative cardiac morbidity. *Anesthesiology*. 1990;72:153-184.
2. US Public Health Service. Mortality, part A. *Vital Health Stat* 2. 1985;2:10-17, 67-68, 100-101.
3. Kouchoukos NT, Ebert PA, Grover FL, Lindesmith GG. Report of the ad hoc committee on risk factors for coronary artery bypass surgery. *Ann Thorac Surg*. 1988;45:348-349.
4. CASS Principal Investigators and Their

Associates. Myocardial infarction and mortality in the Coronary Artery Surgery Study (CASS) randomized trial. N Engl J Med. 1984;310:750-758.

5 5. Murphy ML, Hultgren HN, D'etre K, Thomsen J, Takaro T₅ for the Participants of the Veterans Administration Cooperative Study. Treatment of chronic stable angina: a preliminary report of survival data of the randomized Veterans Administration Cooperative Study. NEnglJMed. 1977;297:621-627.

10 6. Varnauskas E. European coronary surgery study. ZKardiol. 1985;6:73-78.

7. Mangano DT. Perioperative cardiac morbidity: epidemiology, costs, problems, and solutions. West J Med. 1994;161:87-89.

15 8. Mangano DT. Myocardial stunning: an overview. J Cardiac Surg. 1993;8:204-213.

9. Gruber HE, Hoffer ME, McAllister DR, et al. Increased adenosine concentration in blood from ischemic myocardium by AICA riboside: effects on flow, granulocytes, and injury. Circulation. 1989;80:1400-1411.

20

10. Mullane K. The prototype adenosine regulating agent for reducing myocardial ischemic injury. Cardiovasc Res. 1993;27:43-47.

11. Leung JL, Stanley T, Mathew J, for the
25 McSpi Research Group. Initial multicenter randomized

controlled trial on the safety and efficacy of acadesine in patients undergoing CABG surgery. *Anesth Analg.* 1994;78:420-434.

12. Mangano DT, Browner WS, Hollenberg M, London MJ, Tubau JF, Tateo IM, for the McSPI Research Group. Association of perioperative myocardial ischemia with cardiac morbidity and mortality in men undergoing noncardiac surgery. *NEnglJMed.* 1990;323:1781-1788.

13. Menasche P, Jamieson WRE, Flameng K, Davies M, on behalf of the Multinational Acadesine Study Group. Acadesine: a new drug that may improve myocardial protection in coronary artery bypass graft surgery: results of the first international multicenter study. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 1995; 110: 1096- 1106.

14. The Multicenter Study of Perioperative Ischemia (McSPI) Research Group. Effects of acadesine on morbidity and mortality following coronary artery bypass graft surgery. *Anesthesiology.* 1995;88:658- 673.

15. Mangano DT, for the McSPI Research Group. Effects of acadesine on myocardial infarction, stroke, and death following surgery. *Anesth Analg.* 1996;82:SCA42.

16. Demeyere RH, Van Kerrebroeck CJ, Flameng WJ. Cardioprotective effects of acadesine in patients with unstable angina undergoing aortocoronary bypass surgery. *Circulation.* 1994;90(4, pt 2):I-370.

17. Oxman AD, Clarke MJ, Stewart LA. From science to practice: meta-analyses using individual patient data are needed. JAMA, 1995;274:845-846.

18. Jeng GT, Scott JR, Burmeister LF. A
5 comparison of meta-analytic results using literature vs individual patient data: paternal cell immunization for recurrent miscarriage. JAMA. 1995;274:830-836.

19. Whitehead A, Whitehead J. A general
10 parametric approach to the meta-analysis of randomized clinical trials. Stat Med. 1991;10:1665-1677.

20. Yusuf S, Peto R, Lewis J, Collins R, Sleight P. Beta blockade during and after myocardial infarction: an overview of the randomized trials. Prog Cardiovasc Dis. 1985;27:335-371.

15 21. Department of Applied Statistics. PEST 3.0: Planning and Evaluation Sequential Trials. Reading, United Kingdom: University of Reading; 1993.

22. Kalbfleisch JD, Prentice RL. The
20 Statistical Analysis of Failure Time Data. New York, NY: John Wiley & Sons Inc; 1980.

23. Jones EL, Weintraub WS, Graver JM, Guyton RA, Cohen CL. Coronary bypass surgery: is the operation different today? / Thorac Cardiovasc Surg. 1991;101:108-115.

25 24. Haraphongse M, Na-Ayudhya RK, Teo KK, et

al. The changing clinical profile of coronary artery bypass graft patients, 1970-1989. Can J Cardiol. 1994;10:71-86.

25. Clark RE. Calculating risk and outcome: the Society of Thoracic Surgeons database. Ann Thorac Surg. 1996;62:S2-5.

26. Jain U, Zhang A, Sears RJ, Titov V, Titov T, for the McSPI Research Group. Incidence of Q wave myocardial infarction during coronary artery bypass graft surgery in the 24-center McSPI population. Anesthesiology. 1994;81:A157.

27. Aggarwal A, Jain U, Ramsay JG, Wilson R, Comunale ME, for the McSPI Research Group. CK-MB release after coronary artery bypass graft surgery in a multicenter population. Anesthesiology. 1994;81 : A1291.

28. Mora CT, Murkin JM. The central nervous system: responses to cardiopulmonary bypass. In: Mora CT, ed. Cardiopulmonary Bypass: "Principles and Techniques of Extracorporeal Circulation. New York, NY: Springer-Verlag NY Inc; 1995: 114-146.

29. The Warm Heart Investigators. Randomized trial of normothermic versus hypothermic coronary bypass surgery, Lancet. 1994;343:559-563.

30. Martin TC, Craver JM, Gott JP, et al. Prospective, randomized trial of retrograde warm-blood

cardioplegia: myocardial benefit and neurologic threat.
Ann Thorac Surg. 1994;57:298-304.

31. Rashid A, Fabri BM, Fabri BM, et al. A
prospective randomized study of continuous warm versus
5 intermittent cold blood cardioplegia for coronary artery
surgery: preliminary report. Eur J Cardiothorac Surg.
1994;8:265-269.

32. Ely SW, Berne RM. Protective effects of
adenosine in myocardial ischemia. Circulation.
10 1992;85:893-904.

33. Mullane K, Young M. Acadesine: prototype
adenosine regulating agent for treating myocardial
ischemia-reperfusion injury. Drug Dev Res. 1993;28:336-
343.

15 34. Ambrosio G, Jacobus W, Mitchell M, Litt M,
Becker L. Effects of ATP precursors on ATP and free ADP
content and functional recovery of post-ischemic hearts.
Am J Physiol. 1989;256:H560-H566.

35. Mentzer R, Ely S, Lasley R, Berne R. The
20 acute effects of AICAR on purine nucleotide metabolism
and postischemic cardiac function. J Thorac Cardiovas
Surg. 1988;95:286-293.

36. Vinten-Johansen J, Nakanishi K, Zhao ZQ,
Mc-Gee DS, Tan P. Acadesine improves surgical myocardial
25 protection with blood cardioplegia in ischemically

injured canine hearts. Circulation.

1993;88:350-358.

37. Galifianes M. Rullough D, Mullane KM,
Hearse DJ. Sustained protection by acadesine against
5 ischemia and reperfusion-induced injury: studies in the
transplanted rat heart. Circulation. 1992;86:589-597.

38. Lachin J. Sample size determination for rxc
comparative trials. Biometrics. 1977;33:315-324.

39. Young M, Mullane K. Progressive cardiac
10 dysfunction with repeated pacing-induced ischemia:
protection by AICA-riboside. Am J Physiol.
1991;261:H1570-H1577.

40. Mazur C, Mullane K, Young MA. Acadesine
preserves cardiac function and enhances coronary blood
15 flow in isolated, blood perfused rabbit hearts with
repeated ischemia and reperfusion. JMoI Cell Cardiol.
1991;23:S45.

41. Molina- Viamonte V, Rosen MR. AICA-riboside
suppresses arrhythmias induced by coronary artery
20 occlusion and reperfusion. Circulation. 1990;82:645.

42. Henry C, Young M, Zhang C, Sullough D,
Mullane K. Adenosine release from red cells mediates
inhibition of platelet aggregation by acadesine and
delays post-thrombolytic reocclusion in dogs. Circ
25 Suppl. 1991;84:247.

43. Young M, Montag A, Zhang C, Bullough D, Mullane K. Inhibition of intracoronary thrombosis by acadesine: an adenosine-mediated, erythrocyte-dependent activity. *Eur Heart J*. 1993;31:14.
- 5 44. Cronstein BN, Eberle MA, Gruber HE, Levin RI. Methotrexate inhibits neutrophil function by stimulating adenosine release from connective tissue cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991;88:2441-2445.
- 10 45. Galinanes M, Mullane KM, Bullough D, Hearse DJ. Acadesine and myocardial protection: studies of time of administration and dose-response relations in the rat. *Circulation*. 1992;86:598-608.
- 15 46. VaI PG, Pelletier LC, Hernandez MG, et al. Diagnostic criteria and prognosis of perioperative myocardial infarction following coronary bypass. *J Thorac Cardiovas Surg*. 1983;86:878 886.
- 20 47. Schaff HV, Gersh BJ, Fisher LD, et al. Detrimental effect of perioperative myocardial infarction on late survival after coronary artery bypass: report from the Coronary Artery Surgery Study (CASS). *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1984;88:972-981.
- 25 48. Thacker SB. Meta-analysis: a quantitative approach to research integration. *JAMA*. 1988;259:1685-1689.

49. DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials. Control Clin Trials. 1986;7:177-188.

50. Lau J, Antman EM, Jiminez-Silva J, Kupelnick B, Mosteller F, Chalmers TC. Cumulative meta-analysis of therapeutic trials for myocardial infarction. N Engl J Med. 1992;327:248-254.

51. Egger M, Smith GD. Misleading meta-analysis: lessons from 'an effective, safe, simple' intervention that wasn't. BMJ. 1995;310:752-754.

52. Antman EM, Lau J, Kupeinick B, Mosteller F, Chalmers TC. A comparison of results of meta-analyses of randomized control trials and recommendations of clinical experts: treatments for myocardial infarction. JAMA. 1992;268:240-248.

53. Gotzsche PC. Reference bias in reports of drug trials. BMJ. 1987;295:654-656.

54. Yusuf S, Flather M. Magnesium in acute myocardial infarction. BMJ. 1995;310:751-752.

Todas las referencias aquí citadas aquí se incorporan por referencia en sus totalidades.

Habrà de notarse que cuando aparecen los términos "AICA ribósido" o "acadesina" cada uno puede interpretarse que significa acadesina, su profármaco, análogo o su sal.

Los ejemplos anteriores de ninguna manera se

pretende que limiten el alcance de la presente invención, además, podrá apreciarse por una persona con destreza ordinaria en la técnica que pueden realizarse muchos cambios y modificaciones a la misma sin apartarse del espíritu o alcance de las reivindicaciones anexas, y que
5 estos cambios y modificaciones se contemplan dentro del alcance de la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Un método para evitar o reducir efectos
adversos en un paciente con función ventricular izquierda
disminuida que tiene una fracción de expulsión que es
5 menor que 30%, comprende administrar al paciente una
cantidad efectiva de acadesina o su profármaco, análogo o
sal.

2. Un método para evitar o reducir efectos
adversos en un paciente con una condición que comprende
10 administrar al paciente una cantidad efectiva de
acadesina o su profármaco, análogo o sal, en donde la
condición se elige del grupo que consiste de al menos un
infarto al miocardio previo, al menos dos infartos al
miocardio previos, al menos tres infartos al miocardio
15 previos y al menos más de tres infartos al miocardio
previos.

3. El método de conformidad con la
reivindicación 2, caracterizado porque el infarto del
miocardio más reciente ocurrió en un tiempo seleccionado
20 del grupo que consiste de dentro de los últimos 24 meses,
dentro de los últimos 36 meses y dentro de los últimos 48
meses.

4. El método de conformidad con la
reivindicación 1 o 2, caracterizado porque el paciente es
25 mujer.

5. El método de conformidad con la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque la edad del paciente está entre aproximadamente 65 años de edad y aproximadamente 95 años de edad.

5 6. El método de conformidad con la reivindicación 1 o 2, caracterizado porque el paciente es mujer y la edad de la paciente está entre aproximadamente 65 años de edad y aproximadamente 95 años de edad.

7. Un método para evitar o reducir efectos
10 adversos en un paciente que se somete a cirugía no vascular que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de acadesina, o su profármaco, análogo o sal.

8. El método de conformidad con la
15 reivindicación 7, caracterizado porque la cirugía no vascular es de un tipo seleccionado del grupo que consiste de abdominal, neurológica, ginecológica, ortopédica, urológica y otolaringológica.

9. El método de conformidad con la
20 reivindicación 7, caracterizado porque la cirugía no vascular se elige del grupo que consiste de resección de intestino delgado y grueso, apendectomía, laparoscopia, paracentesis, resección transuretral de la próstata (TURP = transurethral resection of the prostate),
25 histerectomía, ligadura de trompas, vasectomía, salpingo-

ooforotomía, sección cesárea, hemorroidectomía, tonsilectomía, miringodectomía, colocación de tubos de miringotomía, remoción de uno o varios pólipos de colon y recto, reparación de prolapso rectal, remoción y
5 tratamiento de neoplasmas de intestino, curetaje, toracentesis, toracotomía, rinoplastía, liposucción y semejantes.

10. Método para evitar derrame cerebral en un paciente que se somete a una cirugía CABG que comprende
10 administrar al paciente una cantidad efectiva de acadesina, o su profármaco, análogo o sal.

11. Una formulación farmacéutica que comprende acadesina, o su profármaco, análogo, o sal, y al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente
15 aceptable,
en donde la formulación proporciona a un paciente que requiere una concentración de plasma en la sangre de acadesina de entre aproximadamente $1 \mu\text{g/ml}$ a $20 \mu\text{g/ml}$ por un período de aproximadamente siete horas, la formulación
20 farmacéutica se adapta para hacer lipofílica la formulación.

12. La formulación farmacéutica de conformidad con la reivindicación 11, caracterizada porque la formulación está en forma de micela.

25 13. Método para disminuir daño de tejido

asociado con un flujo de sangre disminuido en un paciente, este método comprende administrar una cantidad efectiva de acadesina, o su profármaco, análogo o sal al paciente, en donde el paciente es un feto durante trabajo
5 de parto y parto.

14. El método de conformidad con la reivindicación 13, caracterizado porque la acadesina se administra a la madre del feto durante trabajo de parto y parto.

10 15. Método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente que se somete cirugía, que comprende una primera etapa de administrar al paciente una cantidad efectiva de acadesina, o su profármaco, análogo o sal, y una segunda etapa de administrar al
15 paciente una cantidad efectiva de un inhibidor de coagulación en la sangre.

16. El método de conformidad con la reivindicación 15, caracterizado porque la administración del inhibidor de coagulación de la sangre ocurre durante
20 la administración de la acadesina.

17. El método de conformidad con la reivindicación 15, caracterizado porque la acadesina se administra a una dosis total desde 10 mg/kg a 200 mg/kg.

18. Un método para evitar o reducir efectos
25 adversos en un paciente que se somete a cirugía no

vascular, que comprende una primera etapa de administrar al paciente una cantidad efectiva de acadesina, o su profármaco, análogo o sal, y segunda etapa de administrar al paciente una cantidad efectiva de un inhibidor de
5 coagulación de la sangre.

19. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la cirugía no vascular es del tipo seleccionado del grupo que consiste de abdominal, neurológica, ginecológica, ortopédica,
10 urológica y otolaringológica.

20. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la cirugía no vascular se elige del grupo que consiste de resección de intestino delgado y grueso, apendectomía, laparoscopia, paracentesis, resección transuretral de la próstata (TURP
15 = transurethral resection of the prostate), histerectomía, ligadura de trompas, vasectomía, salpingo-
oferoctomía, sección cesárea, hemorroidectomía, tonsilectomía, miringodectomía, colocación de tubos de
20 miringotomía, remoción de uno o varios pólipos de colon y recto, reparación de prolapso rectal, remoción y tratamiento de neoplasmas del intestino, curetaje, toracentesis, toracotomía, rinoplastia, liposucción y semejantes.

25 21. El método de conformidad con la

reivindicación 15 o 18, caracterizado porque el inhibidor de coagulación de la sangre es aspirina.

22. El método de conformidad con la reivindicación 15 o 18, caracterizado porque la acadesina se administra a 0.1 mg/kg/minuto.

23. El método de conformidad con la reivindicación 15 o 18, caracterizado porque la acadesina se administra a por un período de siete horas perioprativamente.

24. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la aspirina se administra a una dosis entre 400 mg y 5 g.

25. El método de conformidad con la reivindicación 18, caracterizado porque la aspirina se administra al menos una vez dentro de 48 horas después de cirugía.

26. El método de conformidad con la reivindicación 15 o 18, caracterizado porque el inhibidor de coagulación de la sangre se elige del grupo que consiste de agente antiplaquetas, enzima trombolítica, inhibidor de agregación, inhibidor de glicoproteína IIb/IIIa, glicosaminoglicano, inhibidor de trombina, anticoagulante, heparina, heparina de bajo peso molecular, cumarinas, derivados indandiona y activador de plasminógeno de tejido.

27. El método de conformidad con las reivindicaciones 15 o 18, caracterizado porque el paciente tiene una historia previa de una condición seleccionada del grupo que consiste de cuando menos un infarto al miocardio, al menos dos infartos al miocardio, al menos tres infartos al miocardio y al menos más de tres infartos al miocardio.

28. El método de conformidad con la reivindicación 27, caracterizado porque el infarto al miocardio más reciente ocurrió en un tiempo seleccionado del grupo que consiste de dentro de los últimos 24 meses, dentro de los últimos 36 meses y de los últimos 48 meses.

29. Un método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente que se somete a cirugía CABG que comprende una primera etapa de administrar al paciente una cantidad efectiva de acadesina, o su profármaco, análogo o sal, y una segunda etapa de administrar al paciente una cantidad efectiva de un inhibidor de coagulación de la sangre.

30. El método de conformidad con la reivindicación 29, caracterizado porque la administración del inhibidor de coagulación de la sangre ocurre durante la administración de la acadesina.

31. El método de conformidad con la reivindicación 29, caracterizado porque la acadesina se

administra a una dosis total desde 10 mg/kg a 200 mg/kg.

32. Una formulación farmacéutica que comprende acadesina, o su profármaco, análogo, o sal, a una concentración que proporciona una concentración de plasma-sangre en un paciente entre $1\mu\text{g/ml}$ a $20\mu\text{g/ml}$ sobre un período de aproximadamente siete horas; Aspirina a dosis entre 40 mg a 5g; y al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

33. Un método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente que se somete a cirugía, que comprende administrar al paciente la formulación farmacéutica de conformidad con la reivindicación 32 dentro de 48 horas después de cirugía.

34. Método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente con una cirugía CABG previa, que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de la formulación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 32.

35. Una solución cardioplégica que comprende 5-amino-1- β -D-(5-bencilamino-5-deoxi-1- β -D-ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida, su profármaco, análogo o sal en una concentración entre $5\mu\text{M}$ aproximadamente $100\mu\text{M}$.

36. Un equipo para utilizar en administrar 5-amino-1- β -D-(5-bencilamino-5-deoxi-1- β -D-ribofuranosil)imidazol-4-carboxamida, su profármaco, análogo o sal a un

paciente que se somete a cirugía cardíaca que comprende:

- a) 5-amino-1- β -D-(5-bencilamino-5-deoxi-1--D-ribofuranosil) imidazol-4-carboxamida liofilizada, su profármaco, análogo o sal para utilizar en preparar 5-amino- β -D-(5-bencilamino-5-deoxi-1- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-carboxamida, su profármaco, análogo o sal en solución para infusión en un paciente que se somete a cirugía cardíaca; y
- b) 5-amino-1- β -D-(5-bencilamino-5-deoxi-1- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-carboxamida su profármaco, análogo o sal en solución para utilizar en preparar una solución de perfundido cardiopléjico para utilizarse para perfusión del corazón de un paciente que se somete a cirugía cardíaca.

37. Un equipo para utilizar en administrar 5-amino-1- β -D-(5-bencilamino-5-deoxi-1- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-carboxamida, su profármaco, análogo o sal a un paciente que comprende:

- a) un recipiente estéril de 5-amino-1- β -D-(5-bencilamino-5-deoxil- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-carboxamida no-pirogénica liofilizada, su profármaco, análogo o sal.

38. Un método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente con función ventricular izquierda disminuida que tiene una fracción de expulsión que es

menos que 30% que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de 5-amino-1- β -D-(5-bencilamino-5-deoxi-1- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-carboxamida su profármacos, análogo o sal.

5 39. Método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente con una condición que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de 5-amino-1- β -D-(5-bencilamino-5-deoxi-1- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-carboxamida su profármaco, análogo o sal, en
10 donde la condición se elige del grupo que consiste de al menos un infarto al miocardio, al menos dos infartos al miocardio, al menos tres infartos al miocardio y al menos más de tres infartos al miocardio.

 40. El método de la reivindicación 38 o 39,
15 caracterizado porque el infarto del miocardio más reciente ocurrió en un tiempo seleccionado del grupo que consiste de dentro de los últimos 24 meses, dentro de los últimos 36 y dentro de los últimos 48 meses.

 41. El método de conformidad con la
20 reivindicación 38 o 39, caracterizado porque el paciente es mujer.

 42. El método de conformidad con la reivindicación 38 o 39, caracterizado porque el paciente es mujer y la edad de la paciente está entre
25 aproximadamente 65 años de edad y aproximadamente 95 años

de edad.

43. El método de conformidad con la reivindicación 38 o 39, caracterizado porque la 5-amino-1- β -D-(5-bencilamino-5-deoxi-1- β -D-ribofuranosil) imidazolo-4-carboxamida su profármaco, análogo o sal se administra a una concentración que proporciona una concentración de plasma-sangre en el paciente entre 1 μ g/ml a 20 μ g/ml sobre un período de aproximadamente siete horas.

44. El método de conformidad con la reivindicación 38 o 39, caracterizado porque la 5-amino-1- β -D-(5-bencilamino-5-deoxi-1- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-carboxamida su profármaco, análogo o sal se administra a 0.1 mg/kg/minuto.

45. El método de conformidad con la reivindicación 38 o 39, caracterizado porque la 5-amino-1- β -D-(5-bencilamino-5-deoxi-1- β -O-ribofuranosil) imidazol-4-carboxamida su profármaco, análogo o sal se administra a por un período de siete horas.

46. Un método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente que se somete a cirugía no vascular que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de 5-amino-1- β -D-(5-bencilamino-5-deoxi-1- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-carboxamida, o su profármaco, análogo o sal.

47. El método de conformidad con la reivindicación 46, caracterizado porque la cirugía no vascular es de un tipo seleccionado del grupo que consiste de abdominal, neurológica, ginecológica, ortopédica, urológica y otolaringológica.

48. El método de conformidad con la reivindicación 46, caracterizado porque la cirugía no vascular se elige del grupo que consiste de resección de intestino delgado y grueso, apendectomía, laparoscopia, paracentesis, resección transuretral de la próstata (TURP = transurethral resection of the prostate), histerectomía, ligadura de trompas, vasectomía, salpingo-oferoctomía, sección cesárea, hemorroidectomía, tonsilectomía, miringodectomía, colocación de tubos de miringotomía, remoción de uno o varios pólipos de colon y recto, reparación de prolapso rectal, remoción y tratamiento de neoplasmas del intestino, curetaje, toracentesis, toracotomía, rinoplastia, liposucción y semejantes.

49. Una formulación farmacéutica que comprende 5-amino-1- β -D-(5-bencilamino-5-deoxi-1- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-carboxamida su profármaco, análogo, o sal, y al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable, en donde la formulación proporciona a un paciente que requiere una

concentración de plasma ensangre de 5-amino-1- β -D-(5-bencilamino-5-deoxi-1- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-carboxamida entre 1 μ g/ml a 20 μ g/ml sobre un período de aproximadamente siete horas, la formulación se adapta
5 para hacer lipofílica la formulación.

50. La formulación farmacéutica de conformidad con la reivindicación 49 caracterizado porque la formulación está en forma de micela.

51. Una solución cardiopléjica que comprende 5-
10 amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-N-[(4-clorofenil) metil] carboximida, su profármaco, análogo o sal en una concentración entre aproximadamente 5 μ M a aproximadamente 100 μ M.

52. Un equipo para utilizar en administrar 5-
15 amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-N-[(4-clorofenil) metil] carboximida, su profármaco, análogo o sal a un paciente que se somete a cirugía cardíaca que comprende:

a) 5-amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -D-ribofuranosil)
20 imidazol-4-N-[(4-clorofenil) metil] carboximid
liofilizada, su profármaco, análogo o sal para utilizar
en preparar 5-amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-N-[(4-clorofenil) metil]
carboximida, su profármaco, análogo o sal en solución
25 para infusión en un paciente que se somete cirugía

cardíaca; y

- b) 5-amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-N-[(4-clorofenil) metil] carboximida su profármaco, análogo o sal en solución para utilizar en preparar una solución de perfundido cardiopléjico para utilizarse para perfusión del corazón de un paciente que se somete a cirugía cardíaca.

53. Un equipo para utilizar en administrar 5-amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-N-[(4-clorofenil) metil] carboximida, su profármaco, análogo o sal a un paciente, caracterizado porque comprende:

- a) un recipiente estéril de 5-amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -O-ribofuranosil) imidazol-4-N-[(4-clorofenil) metil] carboximida no-pirogénica liofilizada, su profármaco, análogo o sal.

54. Un método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente con función ventricular izquierda disminuida que tiene una fracción de expulsión menor que 30% que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de 5-amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -O-ribofuranosil) imidazol-4-N-[(4-clorofenil) metil] carboximida su profármacos, análogo o sal.

55. Un método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente con una condición que comprende

administrar al paciente una cantidad efectiva de 5-amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -O-ribofuranosil) imidazol-4-N-[(4-clorofenil) metil] carboximida su profármaco, análogo o sal, en donde la condición se elige del grupo que
5 consiste de al menos un infarto al miocardio, al menos dos infartos al miocardio, al menos tres infartos al miocardio y al menos más de tres infartos al miocardio.

56. El método de conformidad con la reivindicación 55, caracterizado porque el infarto del
10 miocardio más reciente ocurrió en un tiempo seleccionado del grupo que consiste dentro de los últimos 24 meses, dentro de los últimos 36 meses y de los últimos 48 meses.

57. El método de conformidad con la reivindicación 54 o 55, caracterizado porque el paciente
15 es mujer.

58. El método de conformidad con la reivindicación 54 o 55, caracterizado porque el paciente es mujer y la edad de la paciente está entre aproximadamente 65 años de edad y aproximadamente 95 años
20 de edad.

59. El método de conformidad con la reivindicación 54 o 55, en donde la 5-amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-N-[(4-clorofenil) metil] carboximida, su profármaco, análogo o sal se
25 administra a una concentración que proporciona una

concentración de plasma en sangre en el paciente entre 1 $\mu\text{g/ml}$ a 20 $\mu\text{g/ml}$ sobre un período aproximado de siete horas.

5 60. El método de conformidad con la reivindicación 54 o 55, en donde la 5-amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-N-[(4-clorofenil) metil] carboximida, su profármaco, análogo o sal, se administra a 0.1 mg/kg/minuto.

10 61. El método de conformidad con la reivindicación 54 o 55, en donde la 5-amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-N-[(4-clilorofenilo) metil] carboximida, su profármaco, análogo o sal se administra a por un período de siete horas.

15 62. Método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente que se somete a cirugía no vascular que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de 5-amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-N-[(4-clorofenil) metil] carboximida, su profármaco, análogo o sal.

20 63. El método de conformidad con la reivindicación 62, caracterizado porque la cirugía no vascular es de un tipo seleccionado del grupo que consiste de abdominal, neurológica, ginecológica, ortopédica, urológica y otolaringológica.

25 64. El método de conformidad con la

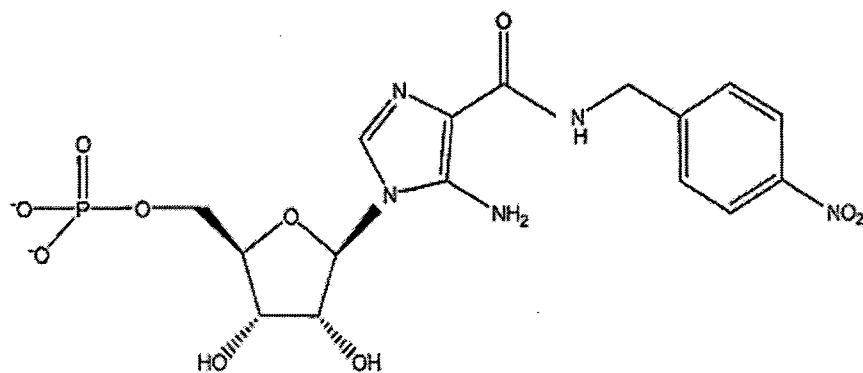
reivindicación 62, caracterizado porque la cirugía no vascular se elige del grupo que consiste de resección de intestino delgado y grueso, apendectomía, laparoscopia, paracentesis, resección transuretral de la próstata (TURP
5 = transurethral resection of the prostate), histerectomía, ligadura de trompas, vasectomía, salpingo-oferoctomía, sección cesárea, hemorroidectomía, tonsilectomía, miringodectomía, colocación de tubos de miringotomía, remoción de uno o varios pólipos de colon y
10 recto, reparación de prolapso rectal, remoción y tratamiento de neoplasmas del intestino, curetaje, toracentesis, toracotomía, rinoplastia, liposucción y semejantes.

65. Una formulación farmacéutica que comprende
15 5-amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-N-[(4-clorofenil) metil] carboximida, su profármaco, análogo, o sal, y al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable,
en donde la formulación proporciona a un paciente que
20 requiere una concentración de plasma en sangre de 5-amino-1-(5-amino-5-deoxi- β -D-ribofuranosil) imidazol-4-N-[(4-clorofenil) metil] carboximida, su profármaco, análogo o sal, entre 1 μ g/ml a 20 μ g/ml, la formulación farmacéutica se adapta para hacer lipofílica la
25 formulación.

66. La formulación farmacéutica de la reivindicación 65, caracterizada porque la formulación está en forma de micela.

67. Una composición que comprende un compuesto
5 representado por la formula (Ia):

10 (Ia)



o cualquier profármaco o sal del mismo.

68. Un equipo para utilizar en administrar la
20 composición de la reivindicación 67 a un paciente que se
somete a cirugía cardíaca, que comprende:

a) forma liofilizada de la composición de la
reivindicación 67, para utilizar en preparar una solución
que contiene la composición de la reivindicación 67 para
25 infusión en un paciente que se somete a cirugía cardíaca;

y b) la composición de la reivindicación 67 en solución para utilizar en preparar una solución de perfundido cardioplégico para utilizarse para perfusión del corazón de un paciente que se somete a cirugía cardíaca.

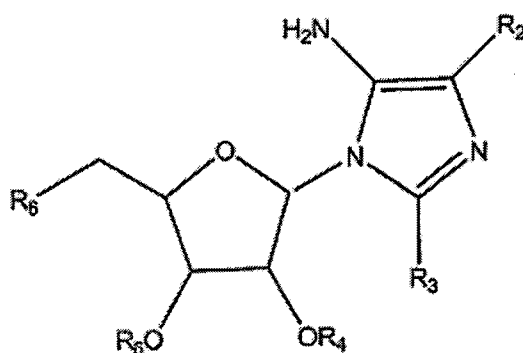
5 69. Equipo para utilizar en administrar la composición de la reivindicación 67 a un paciente, que comprende:

a) un recipiente estéril de una composición no pirogenica liofilizada de la reivindicación 67.

10 70. Una solución cardioplegica que comprende una composición que comprende un compuesto representado por la formula (IIa):

(IIa)

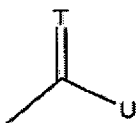
15



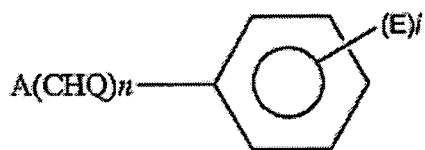
20

en donde R_2 se elige del grupo que consiste de hidrógeno, --CN y el grupo

25



en donde T se elige de oxígeno, azufre, NOH, NH y
 NO(CH₂)_nCH₃ en donde n es de 0 a 2) y U se elige de alcoxi
 inferior, amino un anillo heterocíclico de 3 a 6 miembros
 5 opcionalmente fusionado a un anillo arilo de 3 a 6
 miembros y el grupo



10 en donde A es uno de NH y S, n es de 0 a 3, i es de 0 a
 2, Q es uno de hidrógeno e hidroxil y E representa un
 grupo nitro o hidroxil, siempre que cuando U es amino, T
 no es uno de azufre, NOH, NH y NOCH₃; cuando T es amino,
 U no es alcoxi inferior; y cuando A es amino y n es 1, Q
 15 no es hidroxil;

R₃ se elige de hidrógeno, halógeno, y S-W, en donde W es
 fenilo, o fenilo substituido o hidrógeno cuando T no es
 oxígeno y U no es amino;

R₄ y R₅ cada uno independientemente se elige de hidrógeno,
 20 --COCH₃ y alquilo inferior o juntos forman un carbonato
 cíclico; y

R₆ se elige de hidroxil, fosfato éster, -OSO₂ NH₂,
 sulfhidrilo, halógeno, -OCOCH₃, -SCH₃, -SOCH₃, NH₂ y N₃; y
 sus sales farmacéuticamente aceptables;

25 siempre que cuando R₂ es CONH₂, CONH-para-yodofenilo,

hidrógeno, CN, o $\text{CONHCH}_2-\phi$ y R_3 es hidrógeno o halógeno, y R_4 y R_5 son hidrógeno, acilo, o juntos forman un carbonato cíclico, entonces R_6 no es halógeno, fosfato éster, OH, o --O-acilo en donde el compuesto, su
5 profármaco, análogo o sal está en una concentración de entre 5 μM a 100 μM .

71. La solución cardioplégica que comprende una composición que comprende el compuesto de la reivindicación 67.

10 72. El equipo de conformidad de la reivindicación 68, caracterizado porque la solución de prefundido cardioplégico es la solución de la reivindicación 70.

73. Un método para evitar o reducir efectos
15 adversos en un paciente con función ventricular izquierda disminuida, que tiene una fracción de expulsión que es menos que 30%, que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de la composición de la reivindicación 67, o su profármaco, análogo o sal.

20 74. Un método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente que se someta a cirugía CABG, que comprende administrar perioperativamente al paciente una cantidad efectiva de la composición de la reivindicación 67, o su profármaco, análogo o sal.

25 75. Un método para evitar o reducir efectos

adversos en un paciente con una condición, que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de la composición de la reivindicación 67 o su profármaco, análogo o sal, en donde la condición se elige del grupo
5 que consiste de al menos un infarto al miocardio, al menos dos infartos al miocardio, al menos tres infartos al miocardio y al menos más de tres infartos al miocardio.

76. El método de conformidad con la
10 reivindicación 90, caracterizado porque el infarto al miocardio más reciente ocurrió en un tiempo seleccionado del grupo que consiste de dentro de los últimos 24 meses, dentro de los últimos treinta y seis meses y dentro de los últimos cuarenta y ocho meses.

15 77. El método de conformidad de la reivindicación 73, 74 o 75, caracterizado por que el paciente es mujer.

78. El método de conformidad de la reivindicación 73, 74 o 75, caracterizado por que el
20 paciente es mujer y la edad del paciente está entre aproximadamente 65 años de edad y aproximadamente 95 años de edad.

79. El método de conformidad de la reivindicación 73, 74 o 75, caracterizado porque la
25 composición de la reivindicación 67, su profármaco o sal

se administran a una concentración que proporciona una concentración de plasma en sangre en el paciente entre 1 $\mu\text{g/ml}$ a 20 $\mu\text{g/ml}$ durante un periodo aproximado de siete horas.

5 80. El método de conformidad de la reivindicación 73, 74 o 75, caracterizado la composición de la reivindicación 67, su profármaco o sal se administra a 0.1 mg/kg/minuto.

10 81. El método de conformidad de la reivindicación 73, 74 o 75, caracterizado porque la composición de la reivindicación 67, su profármaco o sal se administra durante un periodo de 7 horas.

15 82. Método para evitar o reducir efectos adversos en un paciente que se someta a cirugía no vascular, que comprende administrar al paciente una cantidad efectiva de la composición de la reivindicación 67, o su profármaco, análogo o sal.

20 83. El método de conformidad con la reivindicación 82, caracterizado porque la cirugía no vascular es de un tipo seleccionado del grupo que consiste de abdominal, neurológica, ginecológica, ortopédica, urológica y otolaringológica.

25 84. El método de conformidad con la reivindicación 83, caracterizado porque la cirugía no vascular elige del grupo que consiste de resección de

intestino delgado y grueso, apendectomía, laparoscopia, paracentesis, resección transuretral de la próstata (TURP = transurethral resection of the prostate), histerectomía, ligadura de trompas, vasectomía, salpingo-
5 oferoctomía, sección cesárea, hemorroidectomía, tonsilectomía, miringodectomía, colocación de tubos de miringotomía, remoción de uno o varios pólipos de colon y recto, reparación de prolapso rectal, remoción y tratamiento de neoplasmas del intestino, curetaje,
10 toracentesis, toracotomía, rinoplastia, liposucción y semejantes.

85. Una formulación farmacéutica que comprende la composición de la reivindicación 67, y al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente
15 aceptable, en donde la formulación proporciona a un paciente que requiere una concentración de plasma en sangre de la composición de la reivindicación 67, entre 1 $\mu\text{g/ml}$ a 20 $\mu\text{g/ml}$ durante un periodo aproximado de siete horas, la formulación farmacéutica se adapta para
20 administración oral en una forma de dosis sólida.

927

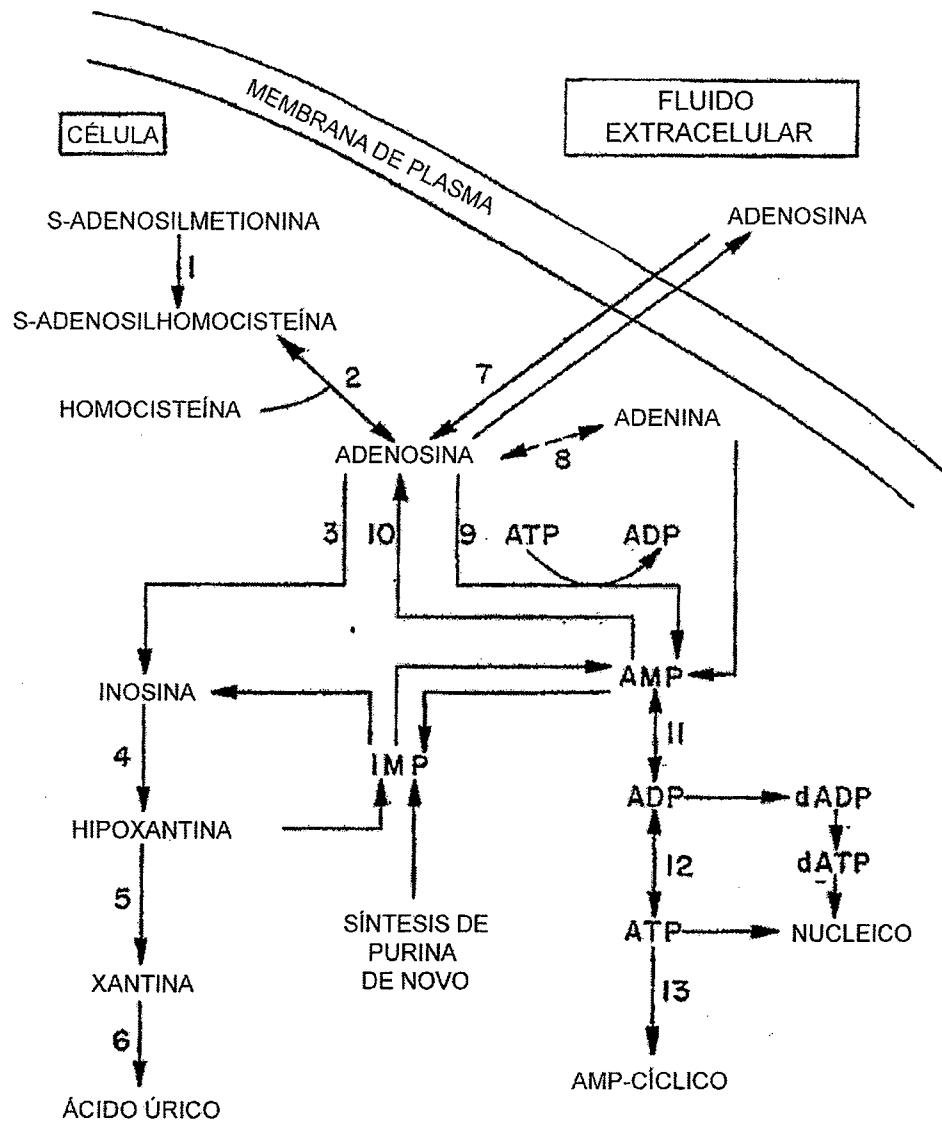


FIG. I

2/24

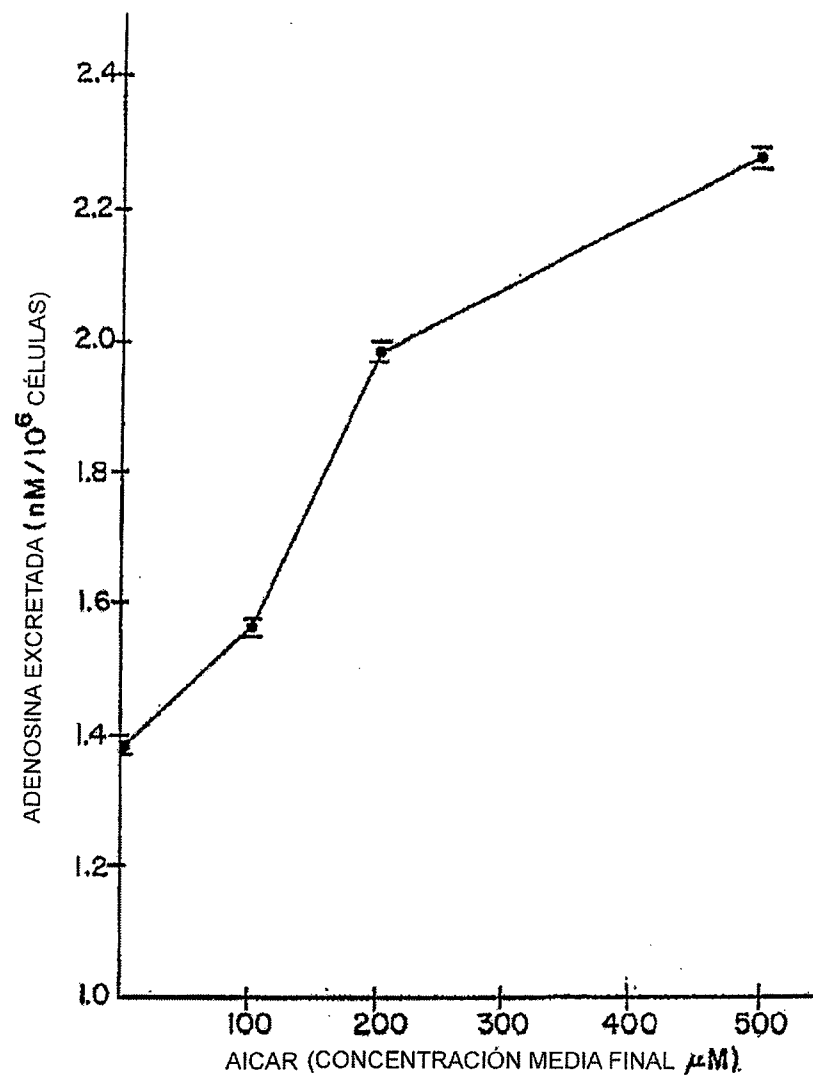


FIG.2

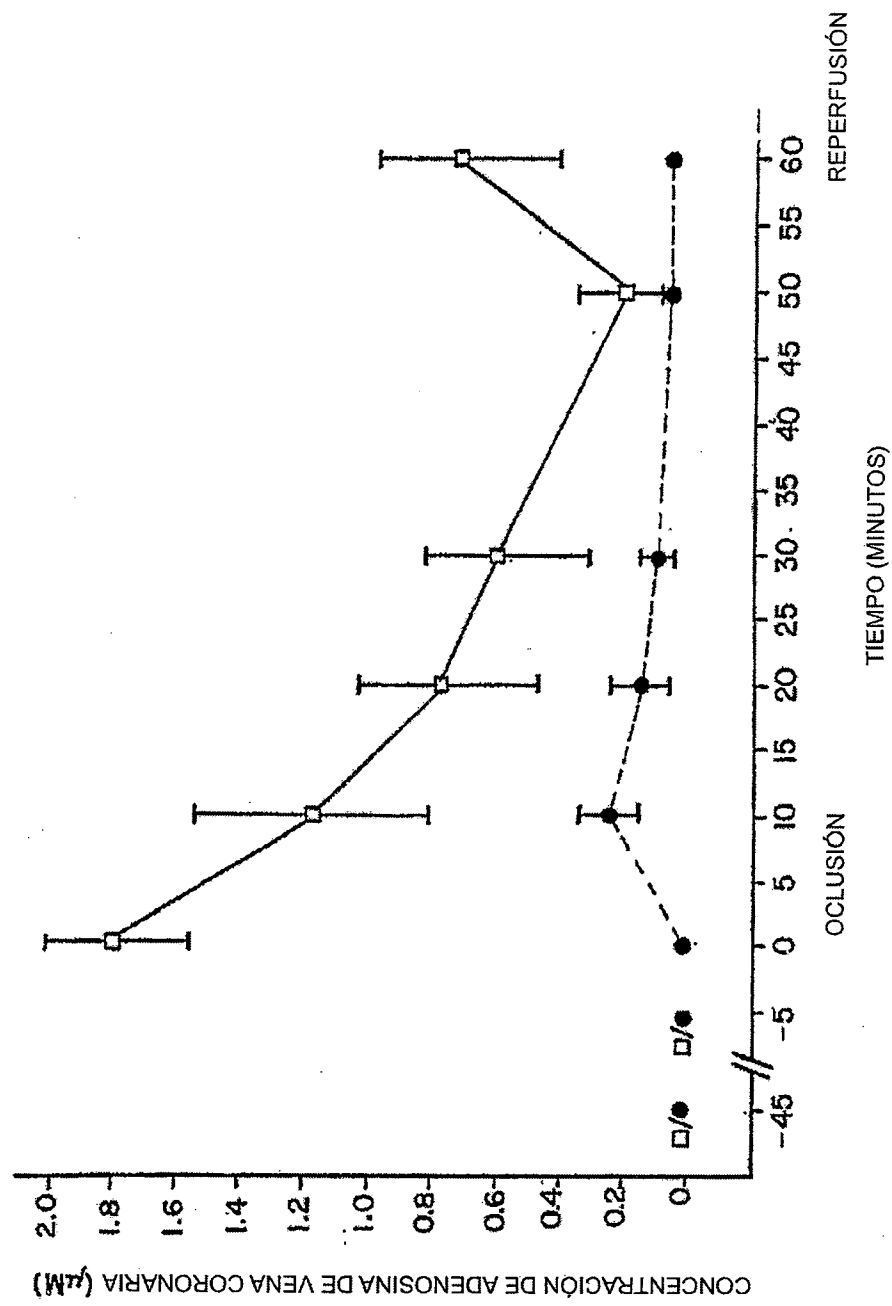


FIG. 3

4/24

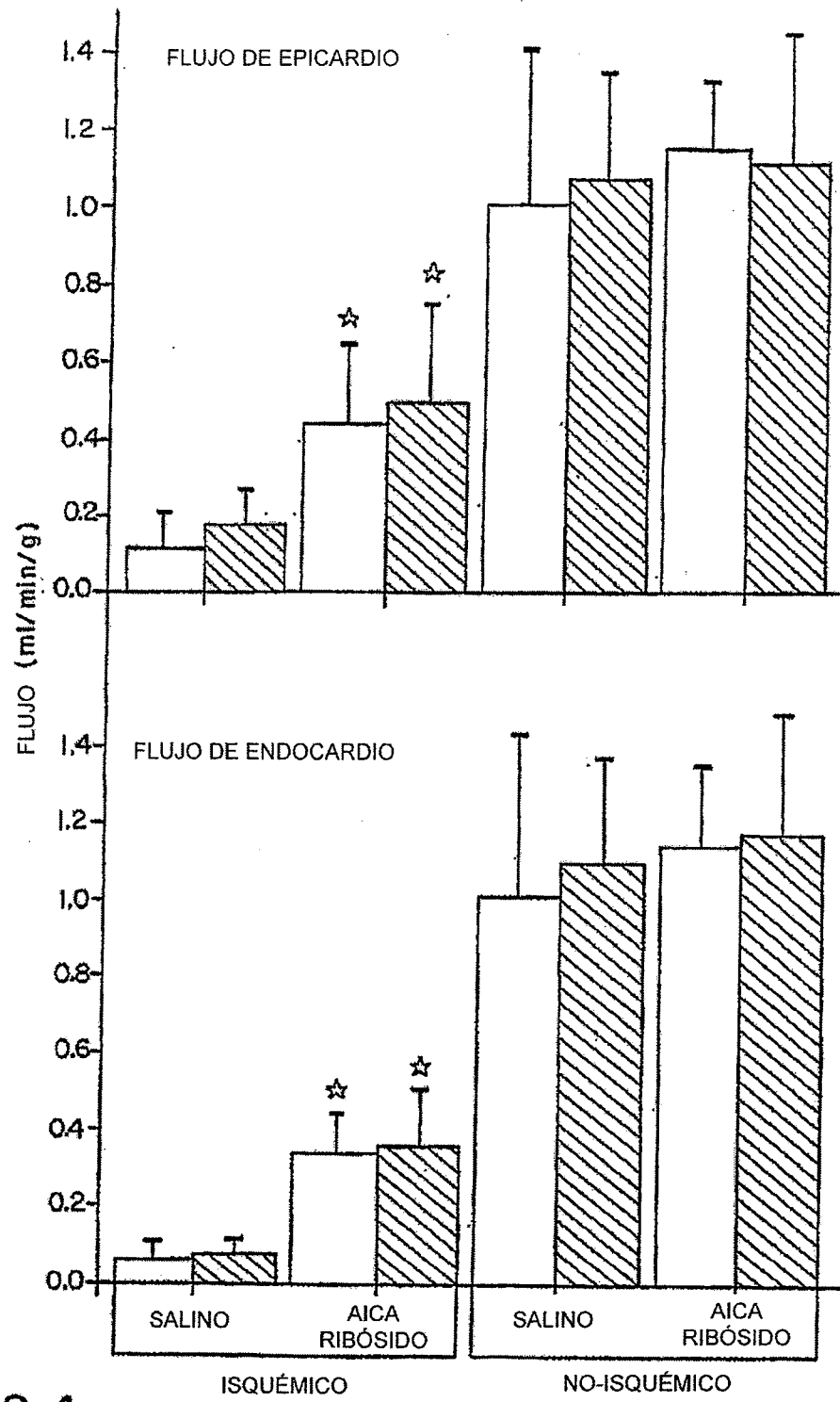


FIG.4

5/24

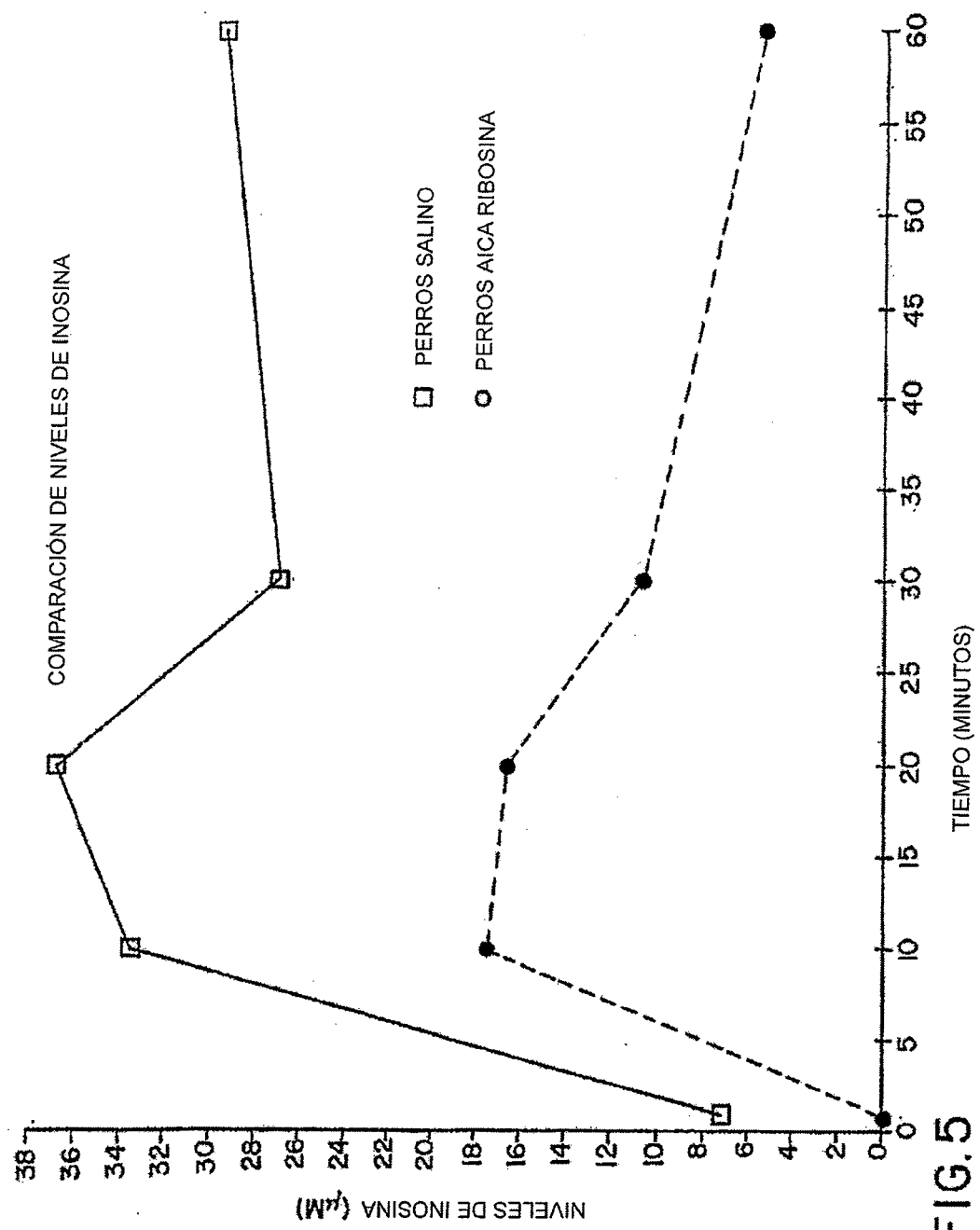


FIG.5

6/24

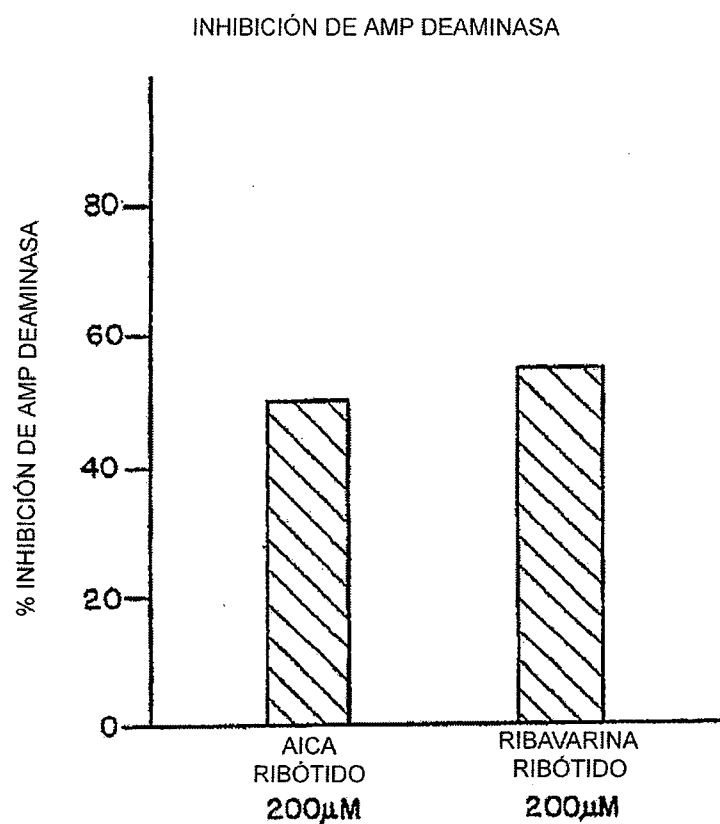


FIG. 6

7/24

FARMACO PRESENTE SÓLO DURANTE
PRE-INCUBACIÓN DE 18 HORAS

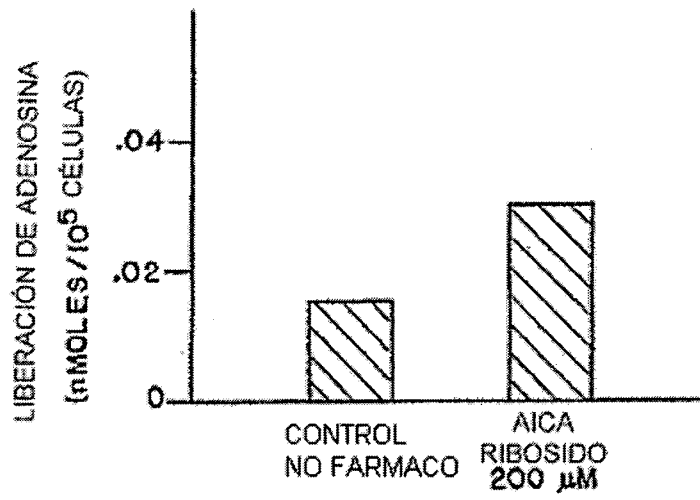


FIG. 7

8/24

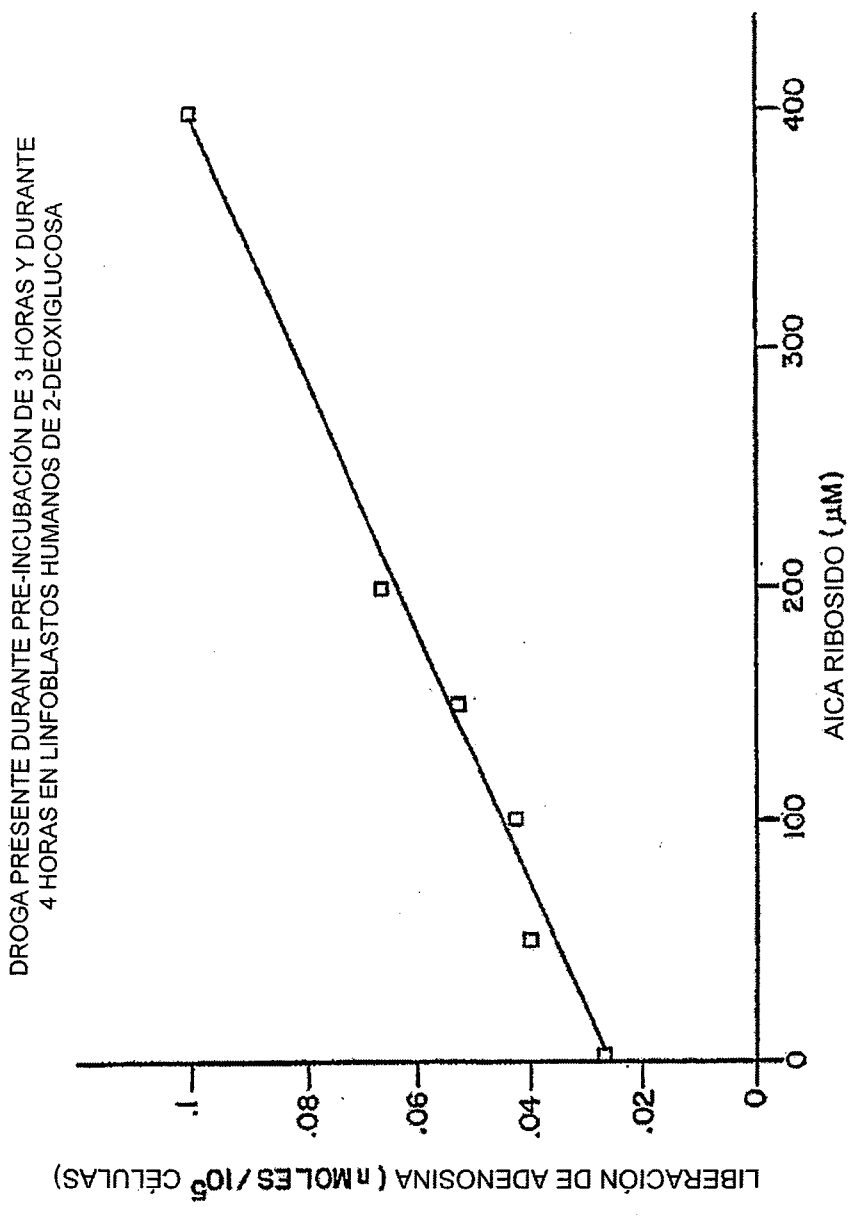


FIG. 8

9/24

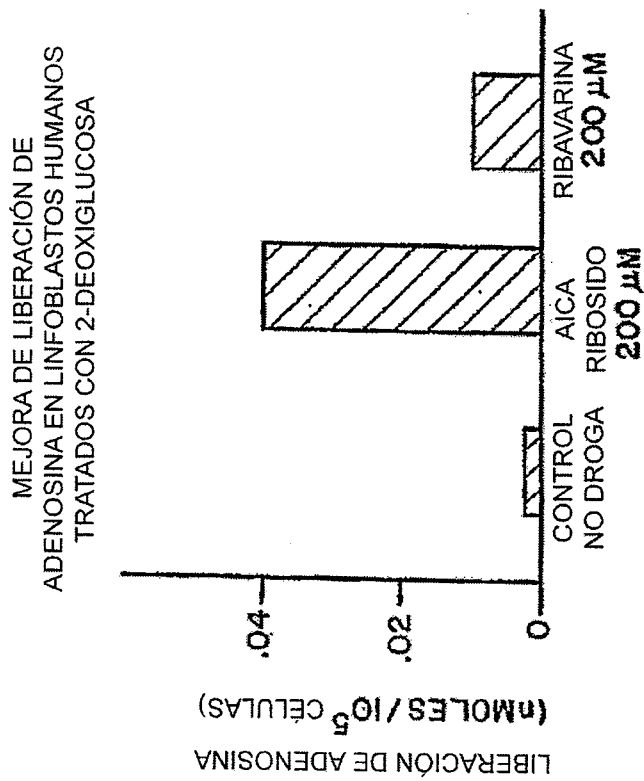


FIG. 9

10/24

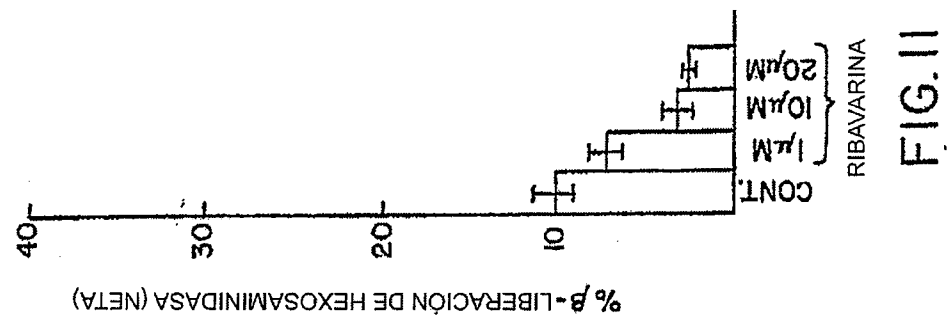


FIG. II

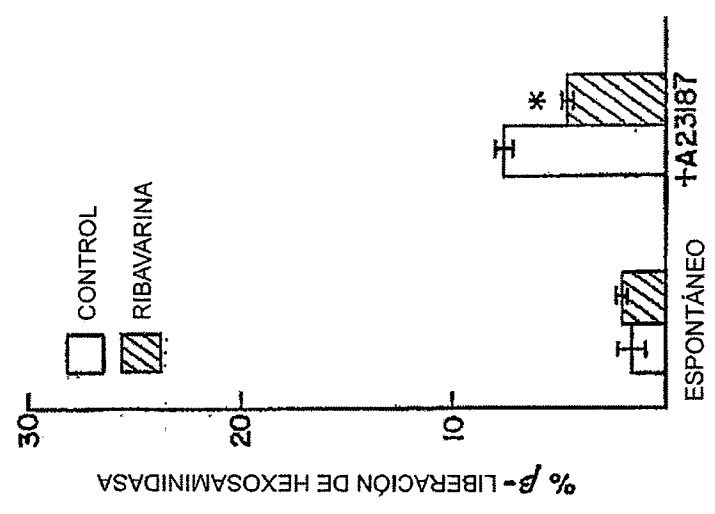


FIG. 10

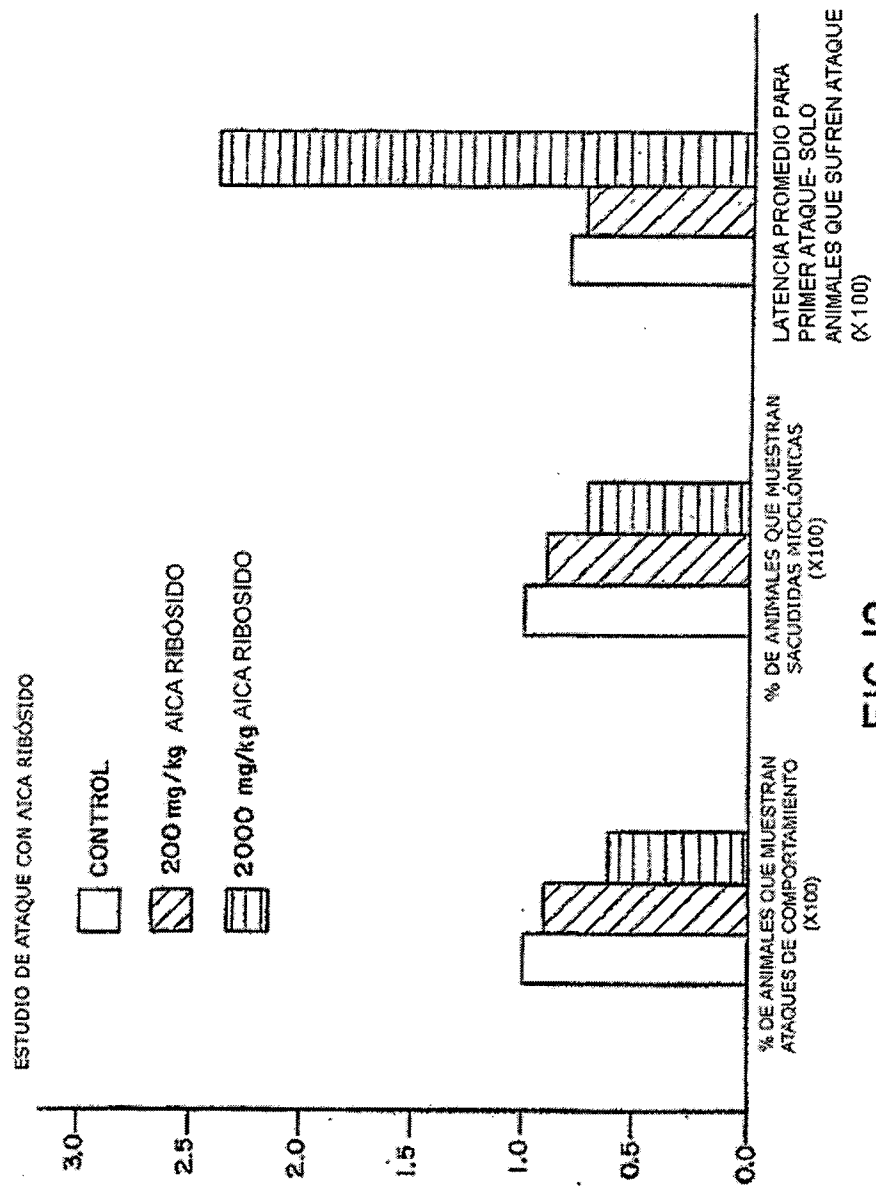


FIG. 12

12/24

ARRITMIAS INDUCIDAS POR ISOPREL EN RATA

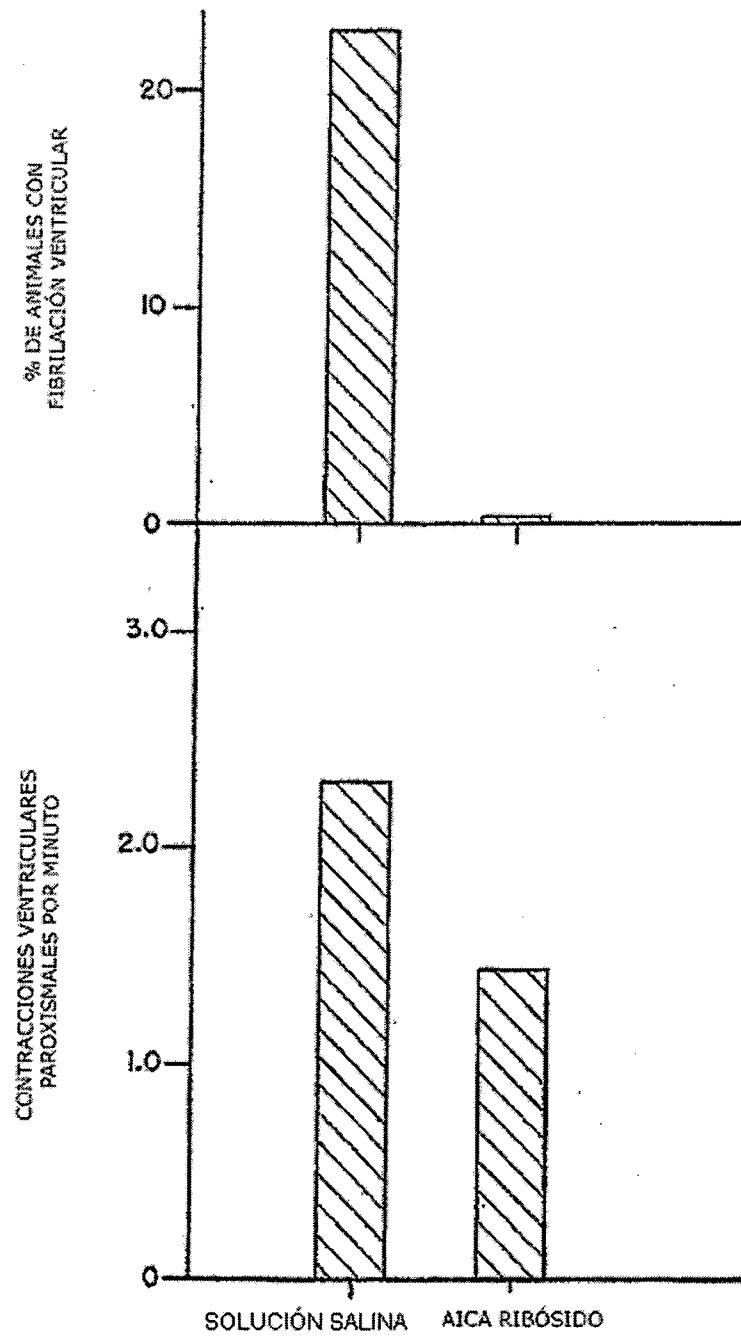
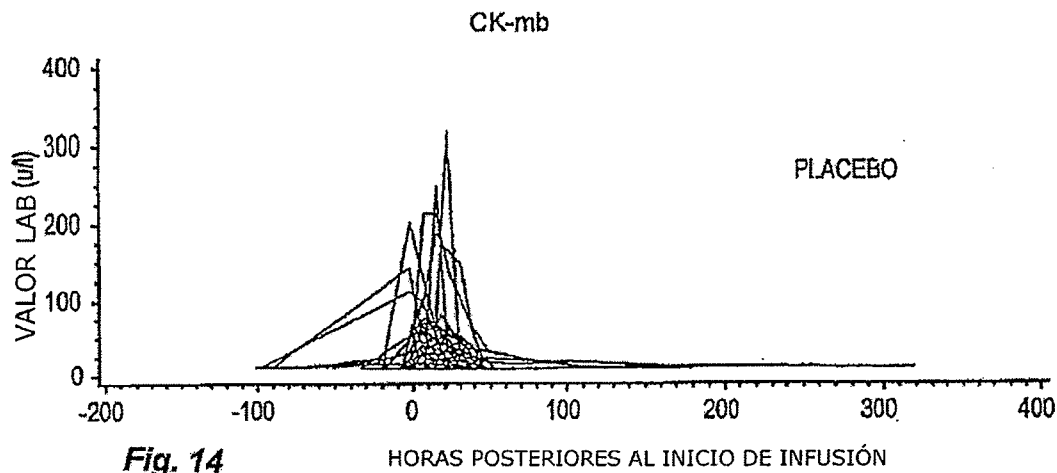
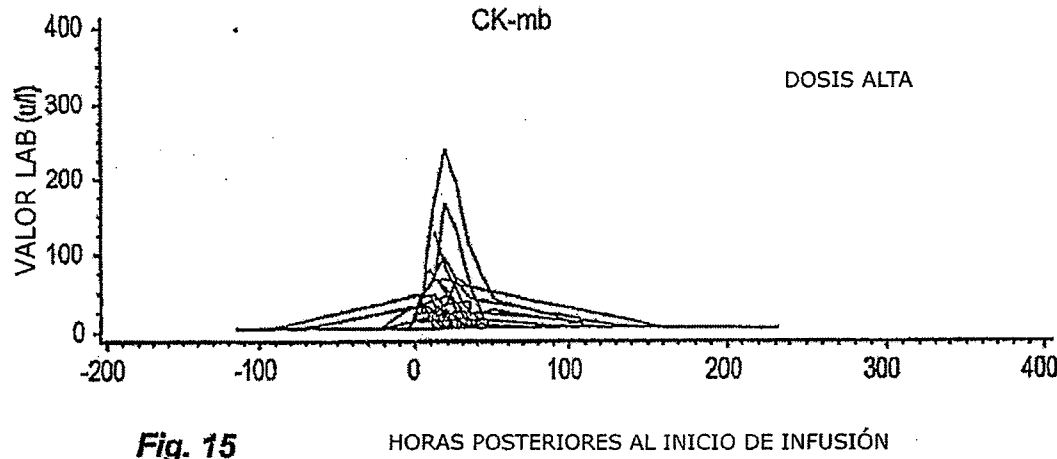


FIG. 13

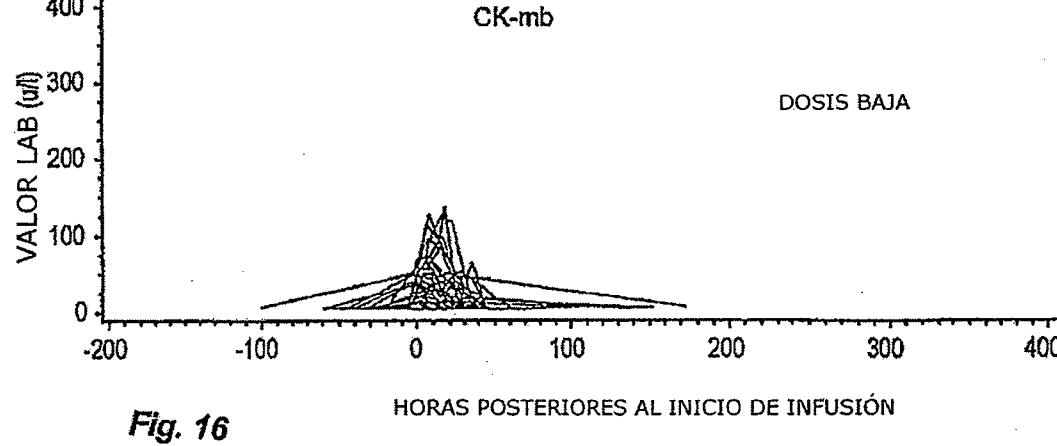
VALORES INDIVIDUALES DE PACIENTES



VALORES INDIVIDUALES DE PACIENTES



VALORES INDIVIDUALES DE PACIENTES



VALORES INDIVIDUALES DE PACIENTES
CK - mb
RESULTADOS CK-mb PROMEDIO CON EL TIEMPO

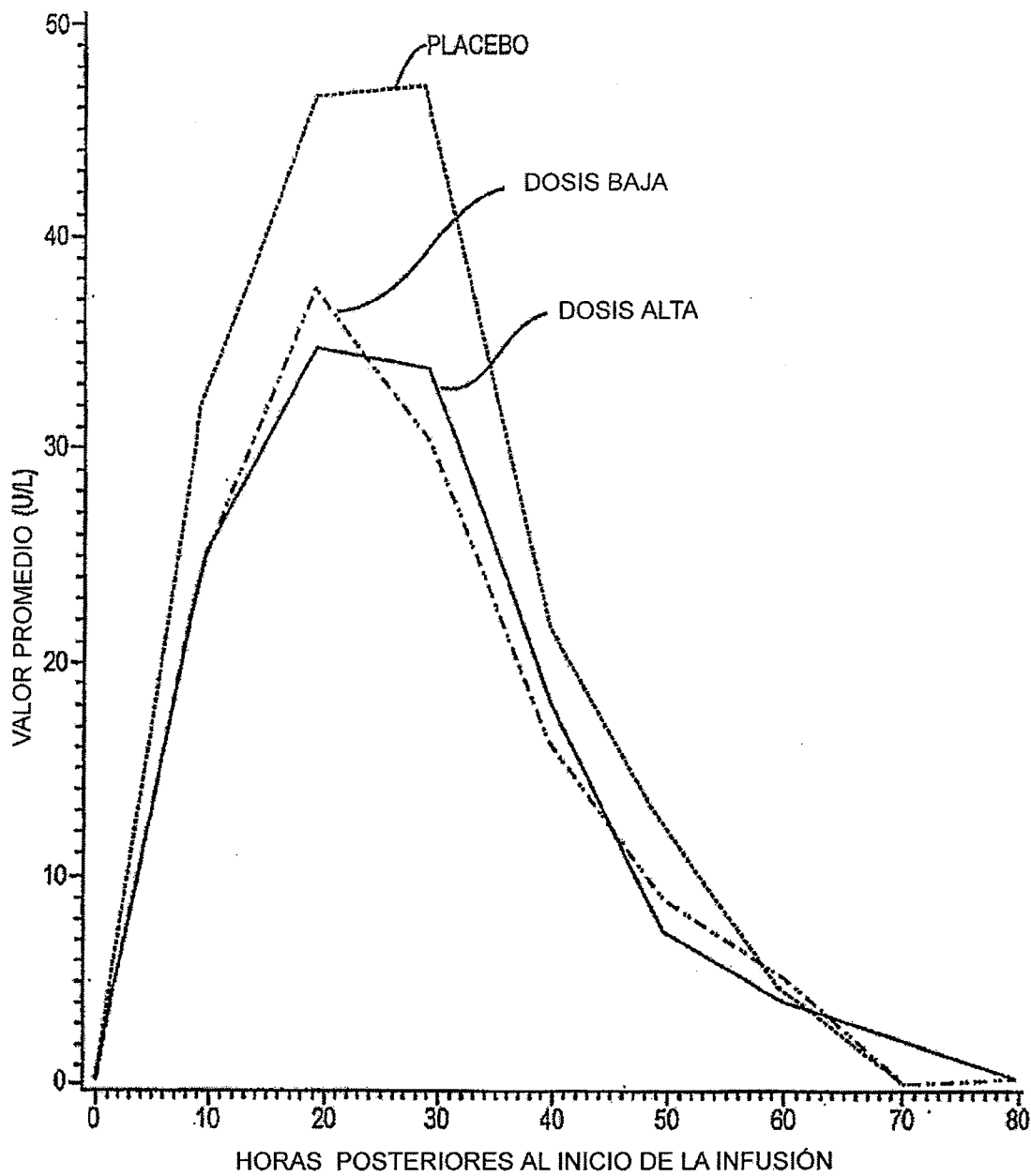


Fig. 17

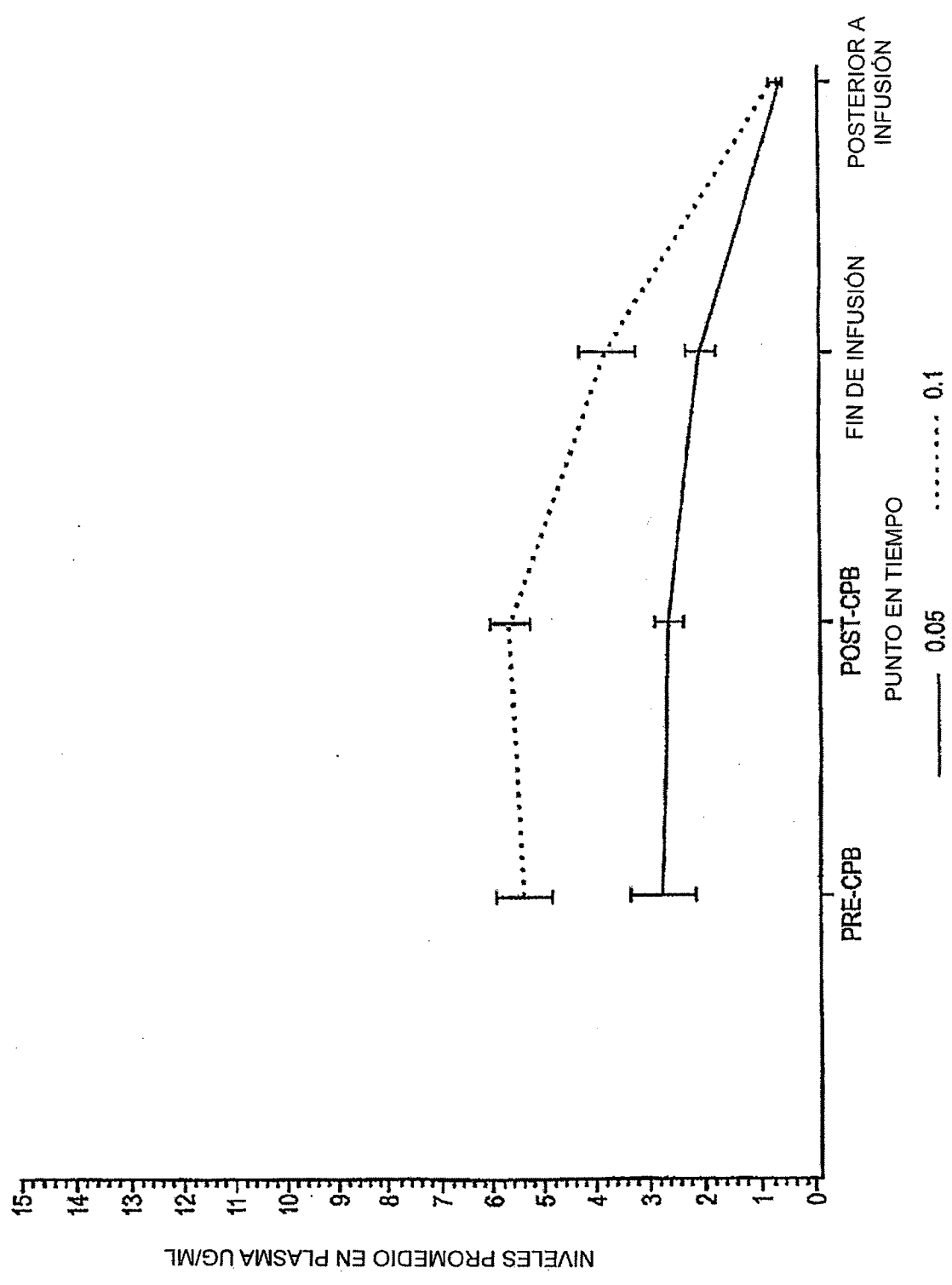


Fig. 18

Fig. 19

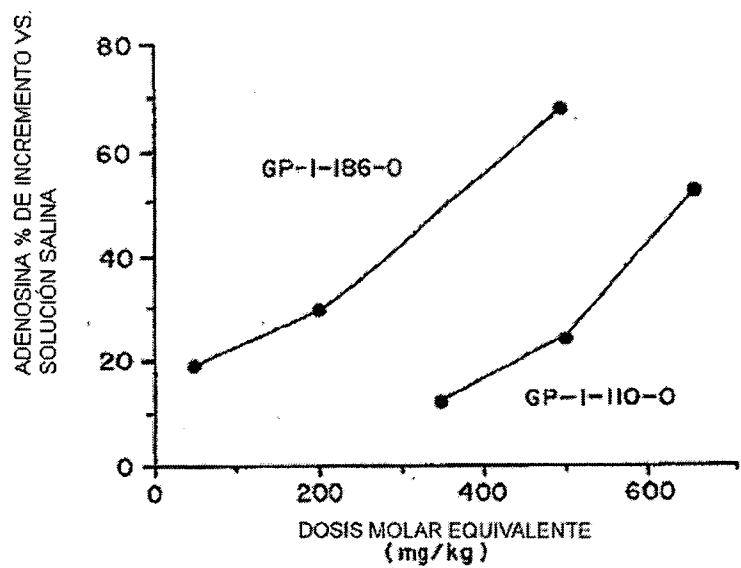


Fig. 20A

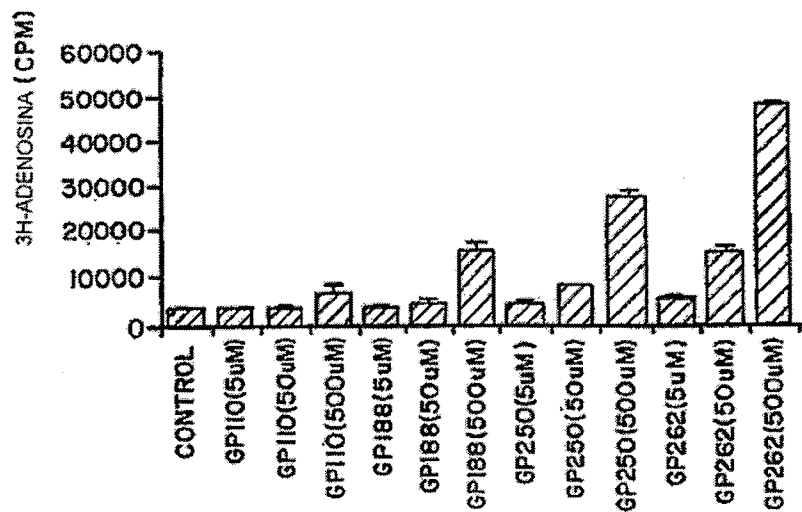


Fig. 20B

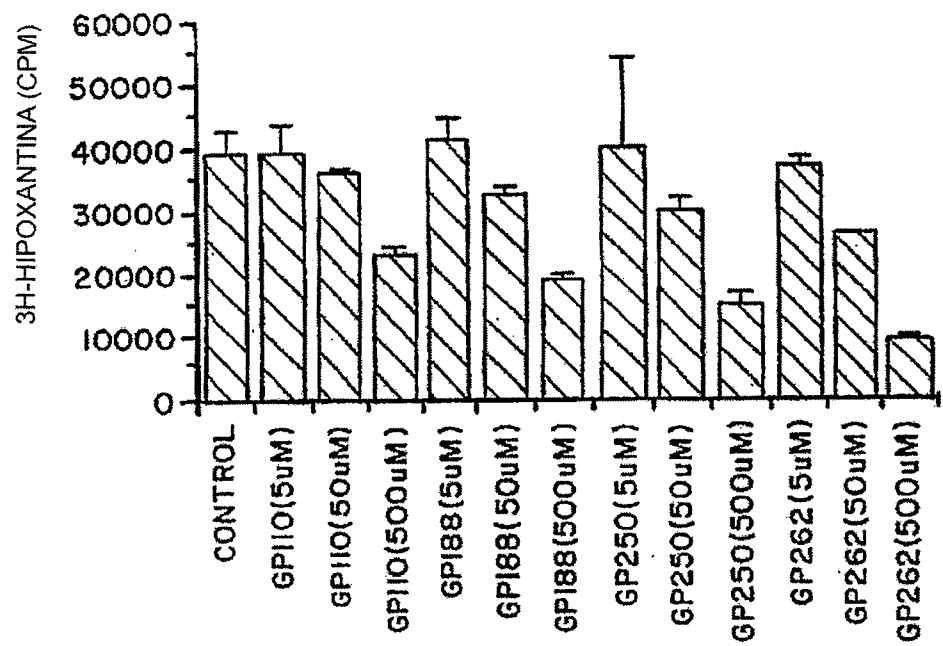


Fig. 20C

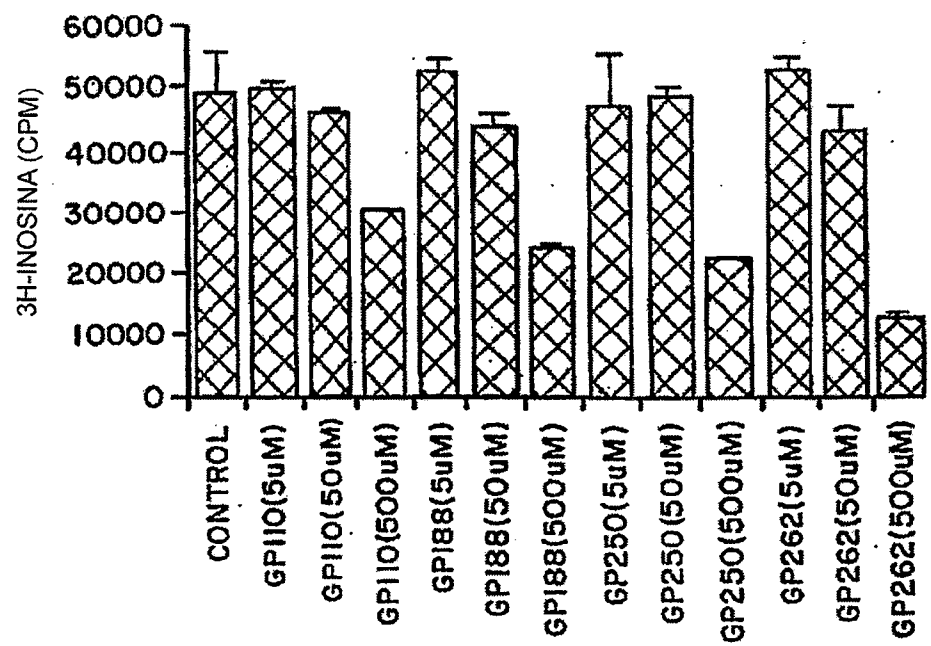
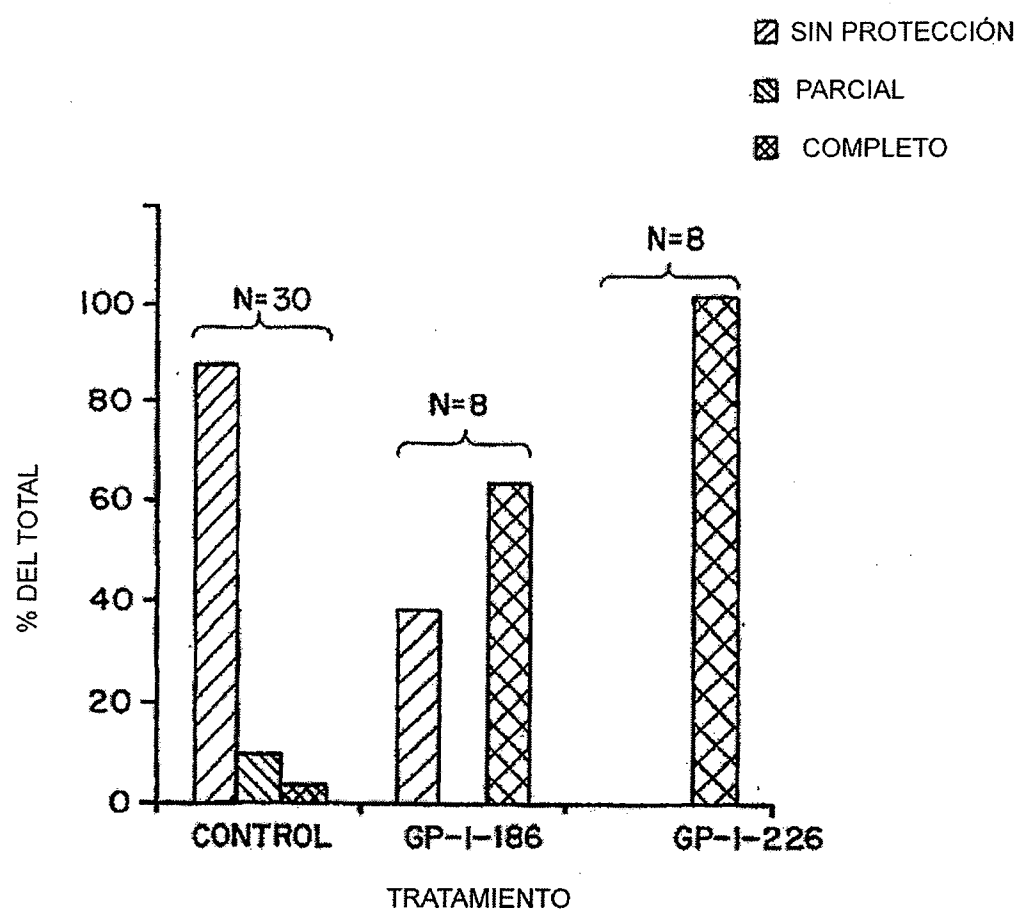
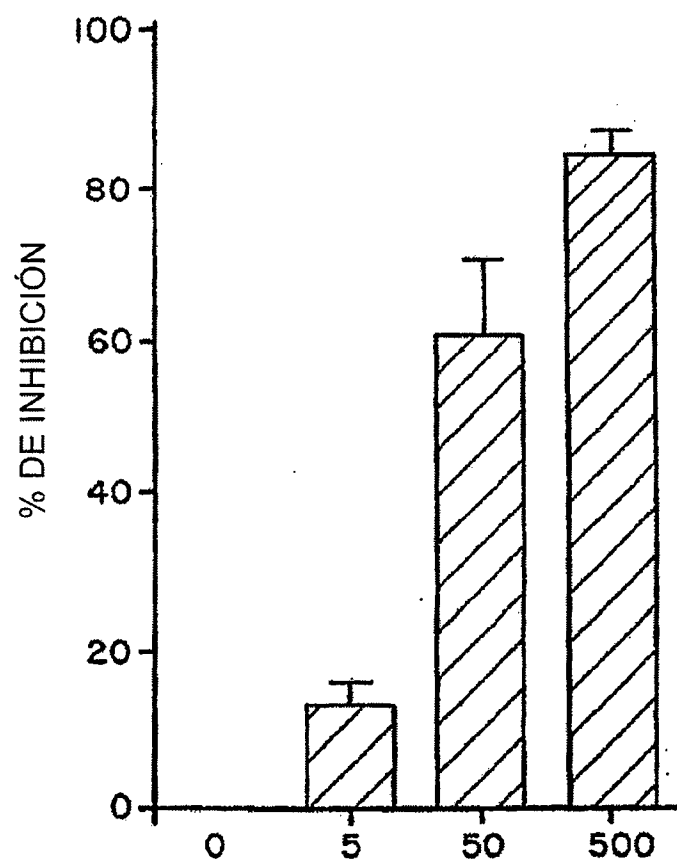


Fig. 21



19/24

Fig. 22



20/24

Fig. 23

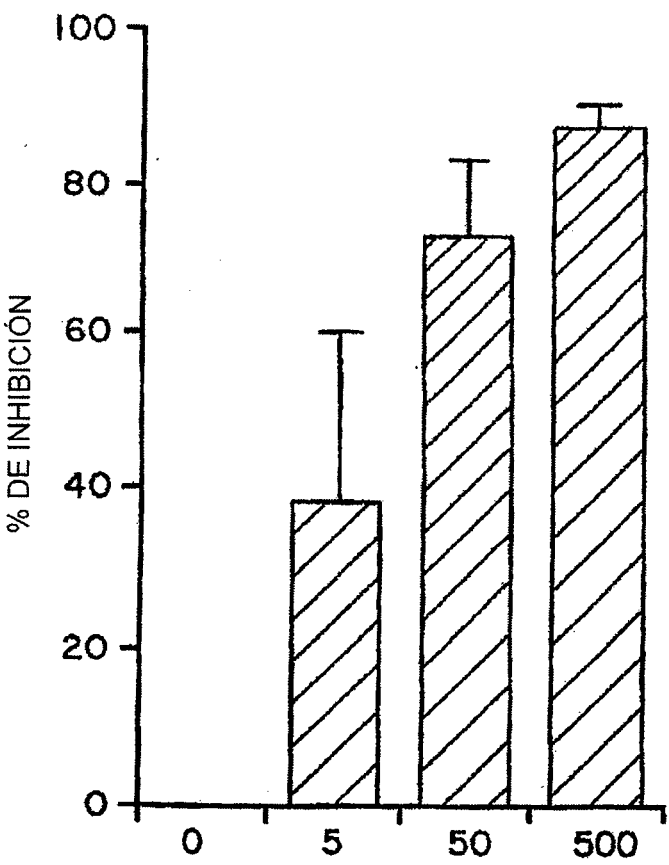
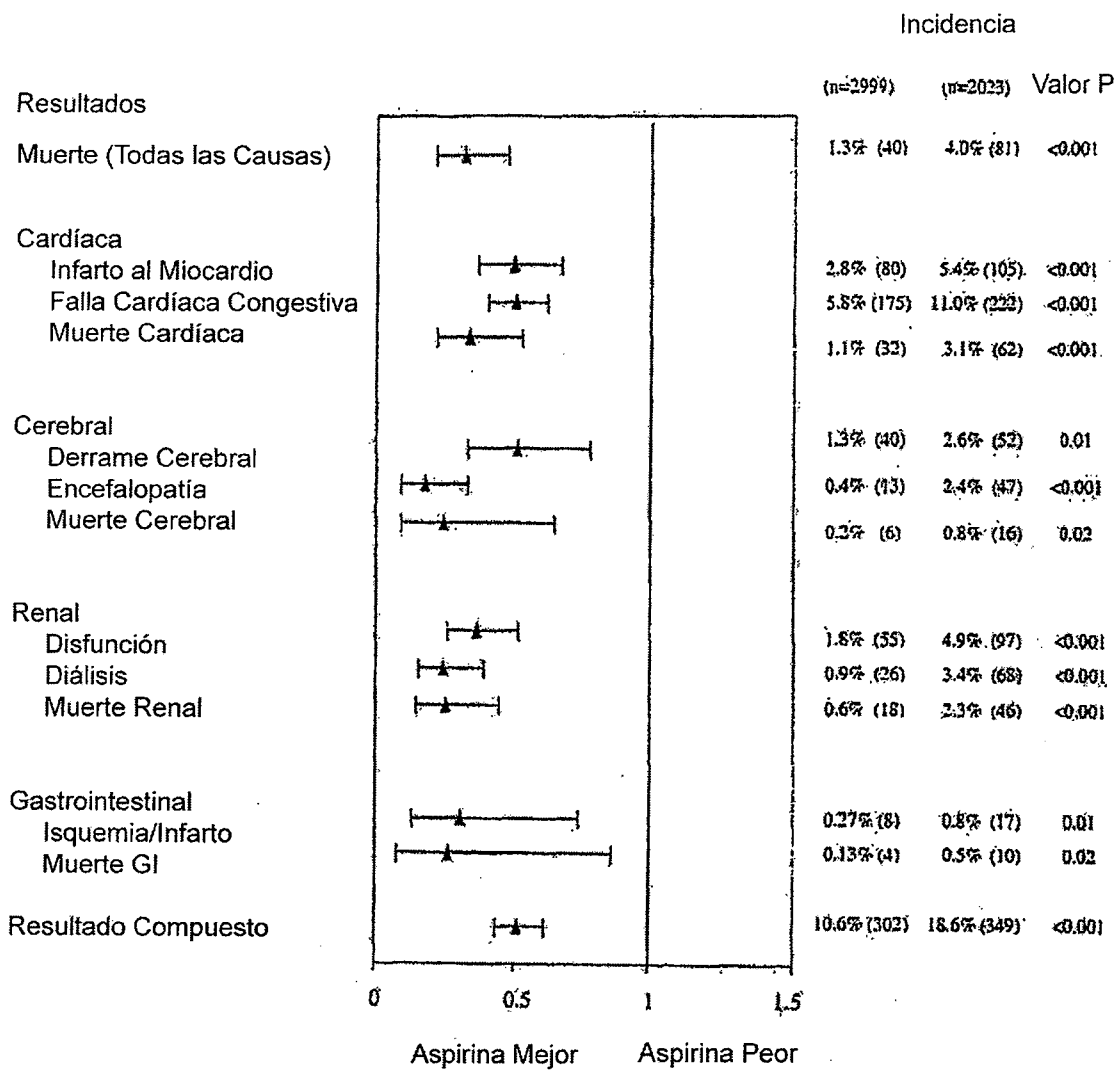


Fig. 24



226

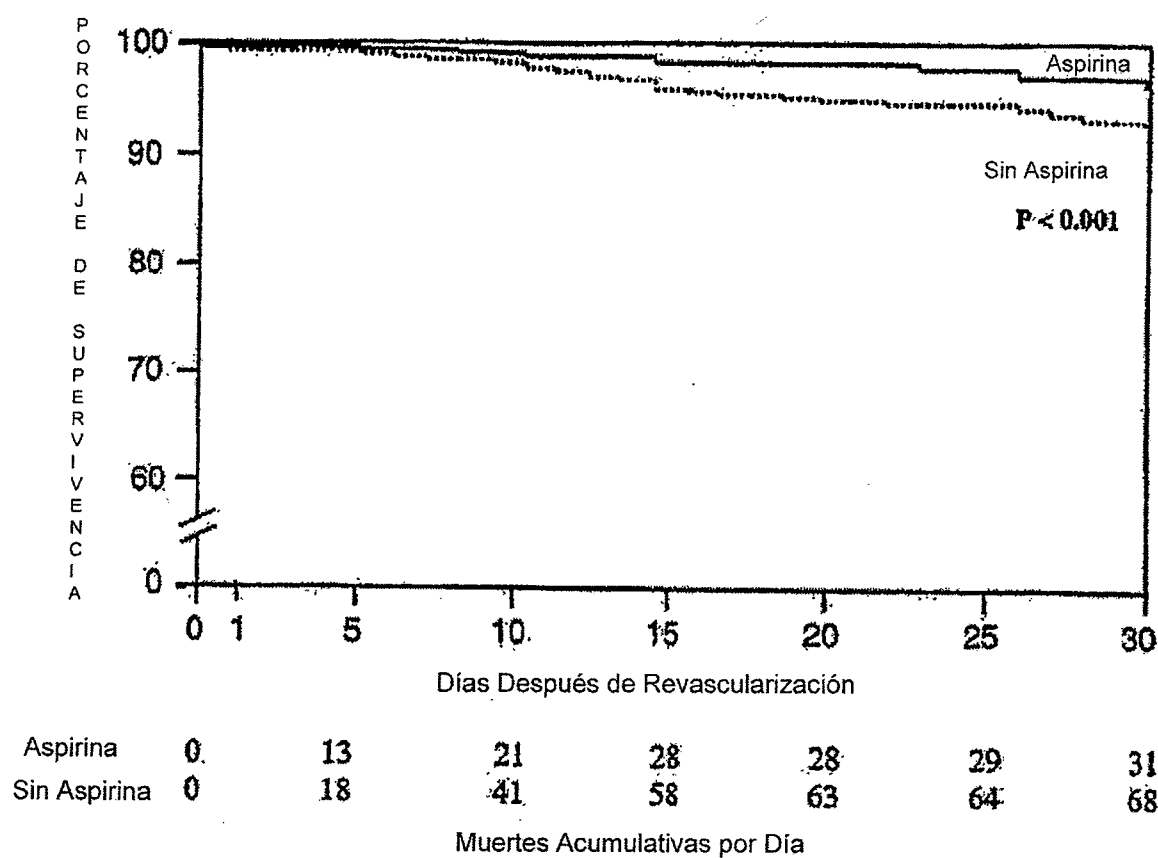


Fig. 25

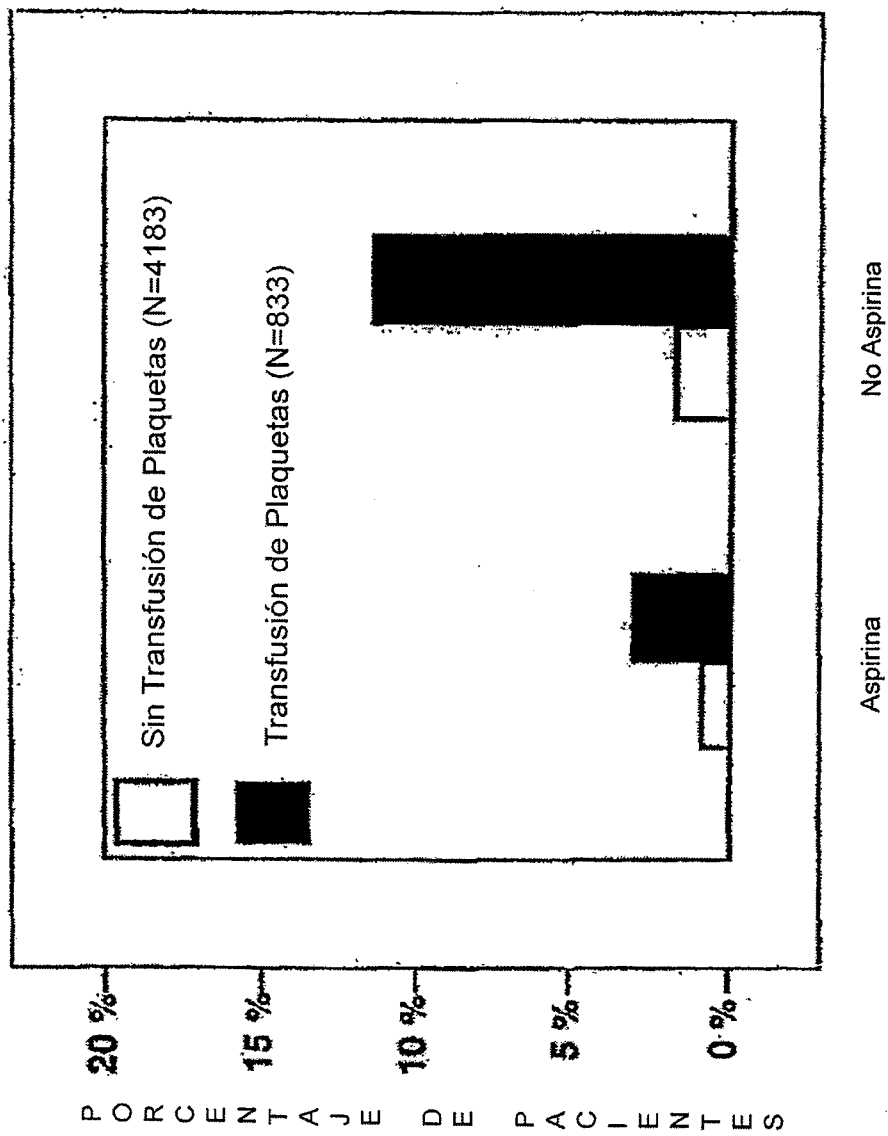


FIG. 26

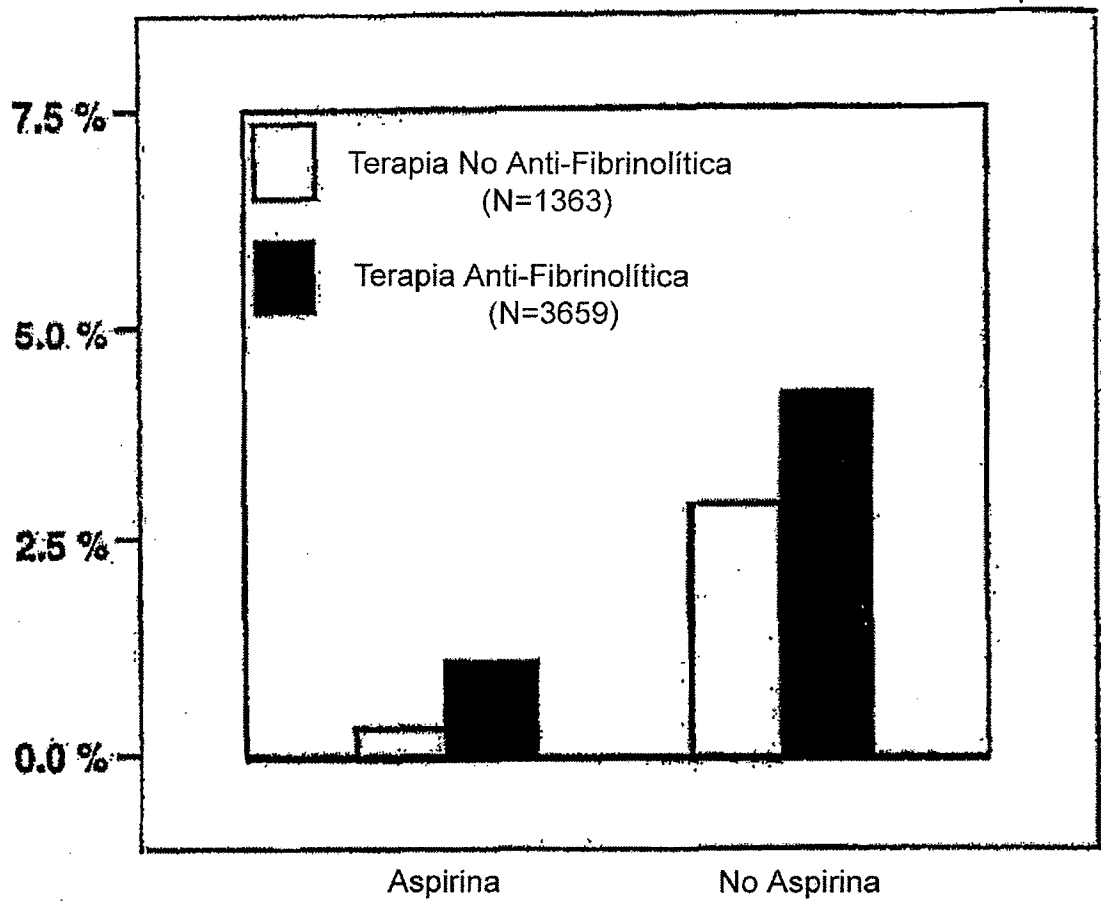


Fig. 27

450

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 07-110389- -00000-0000

Fecha: 2007-10-19 16:24:47
Tra. 11 PATENTEIYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACIONE
Eve: 378 FASENACIONALI
Folios: 449



ndustria y Comercio
UPERINTENDENCIA

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE PCT

PATENTE DE INVENCION

[x]

MODELO DE UTILIDAD []

- Indicación de que se solicita la concesión de una patente [X]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [X]
- Descripción de la invención [X]
- Dibujos de ser estos pertinentes [X]
- Comprobante de pago de las tasas establecidas [X]

COMPLETA [X]

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ◆ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◆ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◆ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◆ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable

Fecha
Conmutador: 3 82 08 40

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5, 7 y 10

Fax: 350 52 20
E-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia