

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 954 905**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/40** (2006.01)

**A61P 9/12** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.04.2012** **E 20211109 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.06.2023** **EP 3821891**

54 Título: **Uso de FK506 para el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar**

30 Prioridad:

**02.05.2011 US 201161481317 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**27.11.2023**

73 Titular/es:

**THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND  
STANFORD JUNIOR UNIVERSITY (100.0%)  
Office of the General Counsel Building 170, Third  
Floor, Main Quad P.O. Box 20386  
Stanford, CA 94305-2038, US**

72 Inventor/es:

**SPIEKERKOETTER, EDDA;  
RABINOVITCH, MARLENE;  
BEACHY, PHILIP, A. y  
SOLOW-CORDERO, DAVID**

74 Agente/Representante:

**ELZABURU, S.L.P**

ES 2 954 905 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Uso de FK506 para el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar

### Antecedentes

- 5 La hipertensión arterial pulmonar es una presión arterial anormalmente alta en las arterias de los pulmones. Debido a que los síntomas pueden desarrollarse muy gradualmente, los pacientes pueden retrasar la visita al médico durante años. Los síntomas comunes son dificultad para respirar, fatiga, tos no productiva, angina de pecho, desmayo o síncope, edema periférico (hinchazón alrededor de los tobillos y pies) y, en raras ocasiones, hemoptisis (tos con sangre).

### Compendio

- 10 Se proporciona un método para reducir la hipertensión arterial pulmonar en un mamífero que emplea FK506. La invención queda definida en las reivindicaciones adjuntas. En esta memoria también se describe un método que comprende administrar FK506 a un mamífero que tiene hipertensión arterial pulmonar asociada con señalización defectuosa de BMPR2 en una dosificación suficiente para reducir la presión sanguínea en la arteria pulmonar del mamífero. En algunos casos, el mamífero es un ratón, una rata o un ser humano. En casos particulares, el mamífero tiene hipertensión arterial pulmonar hereditaria provocada, por ejemplo, por una mutación en BMPR2, ALK1 o endoglin. En casos particulares, el FK506 puede administrarse en una dosis que proporcione una concentración sérica de FK506 de 0,05 a 1 ng/ml, por ejemplo, 0,1-0,2 ng/ml.

### Descripción detallada de realizaciones a modo de ejemplo

- 20 El método descrito en el presente documento es para tratar la hipertensión arterial pulmonar en pacientes que tienen un defecto en la señalización de BMPR2 (receptor de proteína morfogenética ósea 2). La hipertensión arterial pulmonar (HAP) es un trastorno pulmonar progresivo que, sin tratamiento, a menudo conduce a la muerte en promedio unos pocos años después de ser diagnosticado. Una constricción creciente de la circulación pulmonar conduce a un mayor estrés en el corazón derecho, que puede convertirse en insuficiencia cardíaca derecha. Por definición, la presión arterial pulmonar media (mPAP) en un caso de hipertensión pulmonar crónica es de >25 mmHg en reposo o de >30 mmHg durante el esfuerzo, donde los valores normales son de <20 mmHg. La fisiopatología de la hipertensión arterial pulmonar se caracteriza por vasoconstricción y remodelación de los vasos pulmonares. En la HAP crónica hay neomuscularización de vasos pulmonares inicialmente no musculados y los músculos vasculares de los vasos ya muscularizados aumentan de circunferencia. Esta obliteración creciente de la circulación pulmonar da como resultado un estrés progresivo en el corazón derecho, lo que conduce a un gasto reducido del corazón derecho y eventualmente termina en insuficiencia cardíaca derecha (Humbert *et al.*, J. Am. Coll. Cardiol. 2004, 43, 13S-24S).
- 30 Los defectos en la señalización de BMPR2 pueden ser provocados, por ejemplo, por una mutación en BMPR2 (véase el n.º de acceso 600799 en la base de datos OMIM del NCBI), una mutación en ALK1 (el receptor de activina A; véase el n.º de acceso 601284 en la base de datos OMIM del NCBI) o una mutación en endoglin (véase el n.º de acceso 131195 en la base de datos OMIM del NCBI). Puede detectarse un defecto en la señalización de BMPR2, por ejemplo, midiendo la expresión de ARNm o proteína de Id1 (inhibidor de diferenciación 1), que es una lectura en dirección 3' bien conocida para la señalización de BMPR2. La señalización disminuida de BMPR2 disminuye la cantidad de Id1 en las células de músculo liso de la arteria pulmonar. En casos particulares, la hipertensión arterial pulmonar puede ser hipertensión arterial pulmonar hereditaria. En realizaciones particulares, un sujeto puede ser examinado previamente para identificar si tiene una mutación que afecta a la señalización de BMPR2, o pueden someterse a ensayo para determinar si tiene una expresión anormal de Id1.
- 40 FK-506 (también conocido como tacrolimus o Fujimycin) es un fármaco inmunosupresor que se utiliza principalmente tras un trasplante de órganos alogénico para reducir la actividad del sistema inmunitario del paciente y así reducir el riesgo de rechazo del órgano. También se utiliza para el tratamiento de dermatitis atópica grave (eccema), uveítis refractaria grave después de trasplantes de médula ósea, y la afección cutánea vitíligo. FK-506 es una lactona macrólido de 23 miembros descubierta en 1984.
- 45 En las células T, la activación del receptor de células T normalmente aumenta el calcio intracelular, que actúa a través de la calmodulina para activar la calcineurina. Luego, la calcineurina desfosforila el factor de transcripción NF-AT (factor nuclear de células T activadas), que se mueve al núcleo de la célula T y aumenta la actividad de los genes que codifican para IL-2 y citocinas relacionadas. FK-506 previene la desfosforilación de NF-AT. Específicamente, FK-506 reduce la actividad de la peptidil-prolil isomerasa al unirse a la inmunofilina FKBP12 (proteína de unión a FK506) creando un nuevo complejo. Este complejo FKBP12-FK506 interactúa con e inhibe la calcineurina, inhibiendo así tanto la transducción de señales de linfocitos T como la transcripción de IL-2. En algunas realizaciones, el FK506 se administra a una dosis y pauta que proporciona una concentración sérica de FK506 que es mucho menor que la concentración sérica de FK506 comúnmente utilizada en aplicaciones inmunosupresoras (que normalmente es de 5-15 ng/ml). Por ejemplo, en determinadas realizaciones del presente método, el FK506 se administra en una dosis y
- 50 una pauta que proporciona una concentración sérica de FK506 de 0,05 ng/ml a 1 ng/ml, por ejemplo, de 0,1 ng/ml a 0,5 ng/ml, de 0,15 ng/ml a 0,3 ng/ml o por ejemplo de 0,1-0,2 ng/ml. En parte debido a que FK-506 se metaboliza mediante el sistema del citocromo P450, la dosificación exacta puede variar entre pacientes. El FK506 puede administrarse una vez al día o más, por ejemplo, dos veces al día. En aplicaciones inmunosupresoras, normalmente

se administra FK506 dos veces al día con el objetivo de alcanzar niveles séricos de FK-506 de 5 - 15 ng/ml. El tratamiento se inicia con 0,5 mg dos veces al día y luego se aumenta gradualmente según el nivel sérico de FK506 medido. En algunos casos, se recomienda una dosificación de 0,075 mg/kg/día para alcanzar niveles séricos de 5-10 ng/ml. En algunas realizaciones del presente método, el objetivo es alcanzar un nivel sérico de aproximadamente 0,2 ng/ml, que es aproximadamente 1/20 del nivel sérico inmunosupresor. En este caso, puede ser suficiente una dosis inicial de 0,001 mg/kg día a 0,01 mg/kg día (por ejemplo, de 0,002 mg kg/día a 0,05 mg/kg/día, y puede ajustarse según la nivel sérico de FK506 medido. El sujeto puede ser cualquier mamífero, por ejemplo, un ser humano, rata o ratón, por ejemplo. En casos particulares, el FK506 puede alcanzar una concentración sérica tan baja como 0,1-0,2 ng/ml (p. ej., de 0,10 a 0,12, de 0,12 a 0,14, de 0,14 a 0,16, de 0,16 a 0,18 o de 0,18 a 0,20, sin embargo, puede ser aceptable una concentración en suero en el intervalo de 0,2 a 2 ng/ml, por ejemplo, 0,2, 0,5, 1 y 2 ng/ml. En casos particulares, el FK506 puede alcanzar una concentración sérica de <1,0, 1,5-2,5, o 3-5ng/ml.

El FK506 puede administrarse solo o en combinación con otros principios activos que tratan o previenen la HAP. El otro principio activo puede administrarse en un momento diferente o al mismo tiempo que el FK506 y, en determinadas realizaciones, el FK506 y el otro principio activo pueden estar presentes en la misma formulación, o como formulaciones por separado en el mismo kit. Otros principios activos a modo de ejemplo que tratan la HAP incluyen, por ejemplo, análogos de prostaciclina, antagonistas del receptor de endotelina, inhibidores de la fosfodiesterasa-5, bloqueantes de los canales de calcio en dosis altas, anticoagulantes, diuréticos o agentes antiproliferativos. En casos particulares, el otro principio activo puede ser, por ejemplo, Isordil (dinitrato de isosorbida), Revatio (sildenafil), Tracleer (bosentan), Letairis (ambrisentan), Flolan (epoprostenol), Adcirca (tadalafil), Remodulin (treprostinil), Ventavis (iloprost), Tyvaso (treprostinil), Dilatrate-SR (dinitrato de isosorbida), Isordil Titradose (dinitrato de isosorbida), IsoDilate (dinitrato de isosorbida) o Isochron (dinitrato de isosorbida).

La administración de FK506 a un sujeto puede disminuir la presión arterial pulmonar en aproximadamente al menos 1 mm Hg, por ejemplo, al menos 2 mm Hg, al menos 3 mm Hg, al menos 4 mm Hg, al menos 5 mm Hg o al menos 10 mm Hg o más, devolviendo así la presión arterial pulmonar a un nivel que pueda considerarse normal para el sujeto.

En términos generales, en el presente método el FK506 puede administrarse al sujeto de manera similar a cómo se administra FK506 en aplicaciones inmunosupresoras. Por ejemplo, el FK506 puede estar presente en un excipiente farmacéuticamente aceptable, y puede administrarse por vía intravenosa. Alternativamente, puede administrarse por vía oral.

Debido a que el FK506 se administra en una dosis más baja, sus efectos secundarios habituales pueden disminuir. Los efectos secundarios típicos incluyen infección, daño cardíaco, hipertensión, visión borrosa, problemas hepáticos y renales (nefrotoxicidad por tacrolimus), hiperpotasemia, hipomagnesemia, hiperglucemia, diabetes mellitus, picazón, daño pulmonar (el sirolimus también provoca daño pulmonar), y diversos problemas neuropsiquiátricos tales como pérdida de apetito, insomnio, síndrome de encefalopatía posterior reversible, confusión, debilidad, depresión, calambres, neuropatía, convulsiones, temblores y catatonía.

### **Composiciones farmacéuticas**

Puede administrarse una composición farmacéutica que comprende un compuesto objeto a un paciente solo, o en combinación con otros agentes activos suplementarios. Las composiciones farmacéuticas pueden fabricarse usando cualquiera de una variedad de procesos, que incluyen, sin limitación, mezcla, disolución, granulación, preparación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento y liofilización convencionales. La composición farmacéutica puede tomar cualquiera de una variedad de formas que incluyen, sin limitación, una disolución estéril, suspensión, emulsión, liofilizado, comprimido, píldora, gránulo, cápsula, polvo, jarabe, elixir o cualquier otra forma farmacéutica adecuada para su administración.

Puede administrarse un compuesto objeto al huésped usando cualquier medio conveniente capaz de dar como resultado la reducción deseada de la afección o síntoma de la enfermedad. Por tanto, puede incorporarse un compuesto objeto en una variedad de formulaciones para administración terapéutica. Más particularmente, puede formularse un compuesto objeto en composiciones farmacéuticas mediante combinación con portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables apropiados, y puede formularse en preparaciones en formas sólidas, semisólidas, líquidas o gaseosas, tales como comprimidos, cápsulas, polvos, gránulos, pomadas, disoluciones, supositorios, inyecciones, inhalantes y aerosoles.

Las formulaciones para composiciones farmacéuticas se conocen bien en la técnica. Por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, de E. W. Martin, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 19ª edición, 1995, describe formulaciones a modo de ejemplo (y componentes de las mismas) adecuadas para la administración farmacéutica de los compuestos descritos. Las composiciones farmacéuticas que comprenden al menos uno de los compuestos objeto pueden formularse para su uso en medicina humana o veterinaria. Las formulaciones particulares de una composición farmacéutica descrita pueden depender, por ejemplo, del modo de administración y/o de la ubicación de la infección que a tratarse. En algunas realizaciones, las formulaciones incluyen un portador farmacéuticamente aceptable además de al menos un principio activo, tal como un compuesto objeto. En otras realizaciones, también pueden incluirse como principios activos en una composición farmacéutica otros agentes medicinales o farmacéuticos, por ejemplo, con efectos similares, relacionados o complementarios sobre la dolencia que se está tratando.

Los portadores farmacéuticamente aceptables útiles para los métodos y las composiciones descritos son convencionales en la técnica. La naturaleza de un portador farmacéutico dependerá del modo particular de administración que se utilice. Por ejemplo, las formulaciones parenterales comprenden habitualmente fluidos inyectables que incluyen fluidos farmacéutica y fisiológicamente aceptables tales como agua, solución salina fisiológica, soluciones salinas equilibradas, dextrosa acuosa, glicerol o similares como vehículo. Para composiciones sólidas (por ejemplo, formas de polvo, píldora, comprimido o cápsula), los portadores sólidos no tóxicos convencionales pueden incluir, por ejemplo, grados farmacéuticos de manitol, lactosa, almidón o estearato de magnesio. Además de los portadores biológicamente neutros, las composiciones farmacéuticas que van a administrarse pueden contener opcionalmente cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas (por ejemplo, excipientes), tales como agentes humectantes o emulsionantes, conservantes, y agentes tamponadores del pH y similares; por ejemplo, acetato de sodio o monolaurato de sorbitán. Otros excipientes no limitativos incluyen solubilizantes no iónicos, tales como cremofor, o proteínas, tales como albúmina de suero humano o preparaciones de plasma.

Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; (3) celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tal como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes tamponadores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones tamponadas de pH; (21) poliésteres, policarbonatos y/o polianhídridos; y (22) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

Las composiciones farmacéuticas descritas pueden formularse como sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto descrito. Las sales farmacéuticamente aceptables son sales no tóxicas de una forma de base libre de un compuesto que posee la actividad farmacológica deseada de la base libre. Estas sales pueden derivarse de ácidos orgánicos o inorgánicos. Son ejemplos no limitativos de ácidos inorgánicos adecuados ácido clorhídrico, ácido nítrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido yodhídrico y ácido fosfórico. Son ejemplos no limitativos de ácidos orgánicos adecuados ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluensulfónico, ácido metilsulfónico, ácido salicílico, ácido fórmico, ácido tricloroacético, ácido trifluoroacético, ácido glucónico, ácido asparágico, ácido aspártico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluensulfónico, ácido naftalensulfónico, y similares. Se encuentran listas de otras sales farmacéuticamente aceptables adecuadas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17ª edición, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1985. Una sal farmacéuticamente aceptable también puede servir para ajustar la presión osmótica de la composición.

Puede usarse un compuesto objeto solo o en combinación con aditivos apropiados para preparar comprimidos, polvos, gránulos o cápsulas, por ejemplo, con aditivos convencionales, tales como lactosa, manitol, almidón de maíz o almidón de patata; con aglutinantes, tales como celulosa cristalina, derivados de celulosa, goma arábiga, almidón de maíz o gelatinas; con disgregantes, tales como almidón de maíz, almidón de patata o carboximetilcelulosa de sodio; con lubricantes, tales como talco o estearato de magnesio; y si se desea, con diluyentes, agentes tamponadores, agentes humectantes, conservantes y agentes aromatizantes. Tales preparaciones pueden usarse para su administración oral.

Puede formularse un compuesto objeto en preparaciones para su inyección disolviéndolas, suspendiéndolas o emulsionándolas en un disolvente acuoso o no acuoso, tal como aceites vegetales u otros similares, glicéridos de ácidos alifáticos sintéticos, ésteres de ácidos alifáticos superiores o propilenglicol; y si se desea, con aditivos convencionales tales como solubilizadores, agentes isotónicos, agentes de suspensión, agentes emulsionantes, estabilizadores y conservantes. La preparación también puede emulsionarse o el principio activo encapsularse en vehículos de liposomas. Pueden administrarse formulaciones adecuadas para su inyección mediante una vía de administración intravítrea, intraocular, intramuscular, subcutánea, sublingual u otra, por ejemplo, inyección en el tejido de las encías u otro tejido oral. Tales formulaciones también son adecuadas para su administración tópica.

En algunas realizaciones, puede administrarse un compuesto objeto mediante un sistema de administración continua. El término "sistema de administración continua" se usa indistintamente en el presente documento con "sistema de administración controlada" y abarca dispositivos de administración continua (por ejemplo, controlada) (por ejemplo, bombas) en combinación con catéteres, dispositivos de inyección, y similares, una amplia variedad de los cuales son conocidos en la técnica.

Puede utilizarse un compuesto objeto en una formulación en aerosol para administrarse por vía de inhalación. Un compuesto objeto puede formularse en propulsores aceptables presurizados tales como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno y similares.

Además, un compuesto objeto puede convertirse en supositorios mezclándolo con una variedad de bases tales como bases emulsionantes o bases solubles en agua. Un compuesto objeto puede administrarse por vía rectal a través de

un supositorio. El supositorio puede incluir vehículos tales como manteca de cacao, Carbowax y polietilenglicoles, que se funden a la temperatura corporal, pero se solidifican a temperatura ambiente.

El término "forma farmacéutica unitaria", tal como se usa en el presente documento, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y animales, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de un compuesto objeto calculada en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado en asociación con un diluyente, portador o vehículo farmacéuticamente aceptables. Las especificaciones para un compuesto objeto dependen del compuesto particular empleado y del efecto que va a lograrse, y de la farmacodinámica asociada con cada compuesto en el huésped.

La forma farmacéutica de una composición farmacéutica descrita estará determinada por el modo de administración elegido. Por ejemplo, además de fluidos inyectables, pueden emplearse formas farmacéuticas tópicas u orales. Las preparaciones tópicas pueden incluir gotas para los ojos, pomadas, pulverizadores y similares. Las formulaciones orales pueden ser líquidas (por ejemplo, jarabes, disoluciones o suspensiones) o sólidas (por ejemplo, polvos, píldoras, comprimidos o cápsulas). Se conocen métodos para preparar tales formas farmacéuticas, o resultarán evidentes, para los expertos en la técnica.

Pueden formularse determinadas realizaciones de las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto objeto en una forma farmacéutica unitaria adecuada para la administración individual de dosificaciones precisas. La cantidad de principio activo administrada dependerá del sujeto que se esté tratando, la gravedad de la afección y el modo de administración, y es conocida por los expertos en la técnica. Dentro de estos límites, la formulación que va a administrarse contendrá una cantidad de los extractos o compuestos descritos en el presente documento en una cantidad eficaz para lograr el efecto deseado en el sujeto que se está tratando.

Cada compuesto terapéutico puede estar independientemente en cualquier forma farmacéutica, tal como las descritas en el presente documento, y también puede administrarse de diversas maneras, tal como se describe en el presente documento. Por ejemplo, los compuestos pueden formularse juntos, en una única unidad de dosificación (es decir, combinados juntos en una forma tal como cápsula, comprimido, polvo, o líquido, etc.) como producto de combinación. Alternativamente, cuando no se formulan juntos en una única unidad de dosificación, puede administrarse un compuesto objeto individual al mismo tiempo que otro compuesto terapéutico o secuencialmente, en cualquier orden de los mismos.

### **Métodos de administración**

La vía de administración puede seleccionarse según una variedad de factores que incluyen, pero no necesariamente se limitan a, la afección que va a tratarse, la formulación y/o el dispositivo usado, el paciente que va a tratarse, y similares. Las vías de administración útiles en los métodos descritos incluyen, pero no se limitan a, vías oral y parenteral, tales como intravenosa (iv), intraperitoneal (ip), rectal, tópica, oftálmica, nasal y transdérmica. En el presente documento se describen formulaciones para estas formas farmacéuticas.

Una cantidad eficaz de un compuesto objeto dependerá, al menos, del método particular de uso, el sujeto que se está tratando, la gravedad de la afección y la forma de administración de la composición terapéutica. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de una composición es una cantidad de un compuesto especificado suficiente para lograr un efecto deseado en un sujeto (huésped) que se está tratando.

Un experto en la técnica puede determinar las dosis terapéuticamente eficaces (o cantidades inhibitorias del crecimiento) de un compuesto o composición farmacéutica objeto, con el objetivo de lograr concentraciones locales (por ejemplo, tisulares) que sean al menos tan altas como la CI50 de un compuesto aplicable descrito en el presente documento.

El nivel de dosis específico y la frecuencia de dosificación para cualquier sujeto en particular pueden variar y dependerán de una variedad de factores, que incluyen la actividad del compuesto objeto, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, peso corporal, salud general, sexo y dieta del sujeto, modo y momento de administración, tasa de excreción, combinación de fármacos, y gravedad de la afección del huésped que se somete a la terapia.

Para ilustrar adicionalmente la presente invención, se proporcionan los siguientes ejemplos específicos con el entendimiento de que se ofrecen para ilustrar la presente invención y no deben interpretarse de ninguna manera como limitantes de su alcance.

### **Ejemplo I**

#### *Estudio de ratones*

#### *Antecedentes*

Una mutación de pérdida de función en el receptor II de la proteína morfogenética ósea (BMP) (BMPRII) está presente en >80% de la HAP familiar y en ~20% de la HAP idiopática (I) esporádica (Machado *et al.* Hum Mutat 2006, 27:121-

32). Incluso los pacientes con HAPI sin una mutación de BMPRII o con otras causas de HAP tienen expresión reducida de BMPRII, lo que refuerza la importancia de la señalización de BMPRII en la patogénesis de la HAP (Humbert M *et al.* Eur Respir J 2002, 20: 518-23). Además, la terapia génica del receptor BMPRII atenúa la hipertensión pulmonar hipóxica experimental en ratas (Reynolds y col. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2007). Por lo tanto, aumentar la señalización de BMPRII en pacientes con hipertensión arterial pulmonar podría prevenir o revertir la enfermedad.

#### Métodos

Se analizaron 3600 fármacos y compuestos bioactivos aprobados por la FDA para determinar su capacidad para activar la señalización de BMP, utilizando una línea celular de mioblastos de ratones C2C12 transfectada de manera estable con un plásmido informador que expresa un elemento de respuesta de BMP (BRE) del promotor Id1 fusionado con el gen de luciferasa (BRE-luc). Se determinó si el mejor activador de qHTS-BMPRII puede inducir fosforilación de Smad (fosfo), la expresión de Id1 y promover la supervivencia de PAEC y la formación de tubos utilizando BMP4 como control positivo. Se determinó si el activador de qHTS-BMPRII evitaría la HAP en ratones con una delección condicional en BMPRII en EC (BMPRII-SCL-CreERT) que desarrollan HAP exagerada después de 3 semanas de hipoxia (O<sub>2</sub> al 10%). Para valorar si el activador BMPRII también podría revertir la HAP, se usaron 2 modelos de HP experimental grave en ratas: 1. Hipertensión pulmonar inducida por monocrotalina con desarrollo de hipertrofia medial grave de las arterias pulmonares 3 semanas después de la inyección. 2. SUGEN (bloqueador del receptor de VEGF) e hipertensión pulmonar inducida por hipoxia crónica de 3 semanas con desarrollo de formación de neointima en las arterias pulmonares 8 semanas después del inicio del estímulo. Ambos grupos se trataron con FK-506 durante 3 semanas mediante una bomba osmótica sc (0,05 mg/kg/d) después de que se estableciera la HAP y la remodelación de las arterias pulmonares. El nivel sérico de FK-506 en ratones y ratas tenía como objetivo que fuera de 0,2 ng/ml.

#### Resultados

FK-506, un agente que puede inducir la fosforilación de BMPRIA, fue el principal activador de la expresión de Id1. FK-506, a una dosis de 15 ng/ml, el nivel sérico terapéutico utilizado para inducir la inmunosupresión, y a una dosis mucho menor de 0,2 ng/ml aumentó la expresión de la proteína Id1 1 h tras la estimulación, de una manera comparable a la de BMP4 (10 ng/ml) (n=3, p<0,06). Esto fue precedido por fosfo-Smad 1/5/8 a los 15 min, similar a BMP4 (n=3, p<0,001). FK-506 indujo la expresión de p-Smad 1/5/8 e Id1 en PAEC recolectadas de seis pacientes con HAPI diferentes en el momento del trasplante, incluidos 3/6 pacientes que no respondieron a BMP4. Tanto BMP4 como FK-506 mejoraron la supervivencia de las PAEC (n=5, p <0,001) e indujeron la formación de tubos en un ensayo de angiogénesis (n=3, p<0,01). Un tratamiento preventivo de 3 semanas con FK-506 (0,05 mg/kg/d) (niveles séricos 0,2 ng/ml) en ratones con una delección condicional en BMPRII en EC expuestos a 3 semanas de hipoxia evitó el desarrollo de HAP e hipertrofia ventricular derecha (HVD); Presión sistólica del VD: 32±0,9 frente a 21±2,3 mmHg, p<0,001; HVD 36,2±2,5 frente a 26,9±4,5, p<0,01, ambos n=5. Para someter a prueba si FK-506 también podría revertir la HAP, se indujo HAP en ratas con monocrotalina (60 mg una vez sc) y se comenzó el tratamiento con FK-506 3 semanas después de la inyección, momento en que se estableció la HAP (PSVD 50,8±2,7 mmHg, n=7). La supervivencia después de un tratamiento de 3 semanas con FK-506 no difirió en el FK-506 (57%) en comparación con el grupo de vehículo (66%), sin embargo, en aquellos que sobrevivieron la HAP se redujo significativamente después del tratamiento con FK-506 en comparación con los animales tratados con vehículo (PSVD 39,5±4,7 frente a 68,6±4,2 mmHg, n=14).

Se determinó que el estímulo combinado de SUGEN (20 mg/kg s.c) y 3 semanas de hipoxia crónica indujo HAP en ratas cuando las ratas regresaron a la RA y se dejaron durante otras 5 semanas (PSVD 55,1±10,7 frente a control 25,1±0,5 mmHg, HVD 0,24±0,005 frente a 0,44±0,07, n=4, p<0,05), pero que un tratamiento sc de 3 semanas de FK-506 en el momento de la HAP establecida podría prevenir la progresión e inducir la regresión de la HAP en animales tratados con FK-506 frente a tratados con vehículo (PSVD 66,5±4,1 mmHg frente a 39,5±0,6 mmHg, HVD 0,49±0,07 frente a 0,34±0,02, n=4, p<0,05). La formación de neointima en arterias pulmonares pequeñas (pared alveolar y vasos del conducto alveolar) por número total de vasos disminuyó de desde el 61,2±6,1% hasta el 16,2±5,8% (n=4, p<0,01). A la dosis baja de FK-506 de 0,2 ng/ml, no se observó ningún efecto sobre el recuento de leucocitos total o diferencial, ni se midió un efecto inmunosupresor de la disminución de NFATc2 nuclear.

#### Conclusión

Se identificó FK-506 (tacrolimus) en una selección cuantitativa de alto rendimiento (qHTS) de fármacos y compuestos bioactivos aprobados por la FDA como un fármaco que activa la señalización de BMPRII, restaura la función normal de las células endoteliales de la arteria pulmonar (PAEC), previene y revierte la HAP experimental en ratones y ratas.

#### Ejemplo 2

##### Estudio clínico

Se invita a los pacientes a participar en este estudio porque tienen hipertensión pulmonar (HP) y actualmente se les trata con uno o varios fármacos para la HP tales como inhibidores de la PDE-5 (sildenafil, tadalafil), prostaciclina (Flolan, Remodulin, Iloprost) y/o el antagonista de la endotelina ambrisentan. Si bien todos estos fármacos son eficaces como vasodilatadores, se buscan nuevos medicamentos que puedan revertir la remodelación patológica de las arterias pulmonares. Ya sea que los sujetos tengan una forma familiar de hipertensión pulmonar o no, se sabe que una

determinada vía (BMPP2) está alterada en la HP. Los estudios han demostrado que el fármaco inmunosupresor FK-506 (tacrolimus) activa la vía de BMPP2 y previene y revierte la hipertensión pulmonar en la hipertensión pulmonar experimental.

5 Este estudio está abierto a sujetos masculinos o femeninos, de 18 - 70 años, con HP. Si un paciente acepta participar en este estudio, el paciente será uno de los 40 sujetos que participen en el estudio.

10 Si un paciente acepta participar y la patente cumple los requisitos, el paciente será asignado al fármaco del estudio a través de un proceso llamado aleatorización. La aleatorización significa que el fármaco del estudio que recibirá el paciente se selecciona al azar (como el lanzamiento de una moneda). Las opciones de fármacos de estudio para este estudio son placebo y 3 dosis diferentes de FK-506 (nivel en sangre <1,0, 1,5-2,5 y 3-5 ng/ml; como referencia: la dosis inmunosupresora es de 5-15 ng/ml) . El fármaco del estudio se añadirá a la terapia de HP inicial del paciente. La aleatorización para este estudio es de 1:3, lo que significa que los pacientes tienen una probabilidad del 75% de recibir tratamiento con FK-506.

15 El propósito de este estudio es confirmar que añadir FK-506 a un tratamiento de HP en una dosis por debajo de la dosis normal que se usa para la inmunosupresión es seguro y si mejorará la hipertensión pulmonar. La función cardíaca se valorará mediante eco, caminata de 6 min y el biomarcador NT-proBNP.

#### *Estudiar medicación*

20 FK-506 (tacrolimus) es un fármaco inmunosupresor aprobado por la FDA que se utiliza en el trasplante de órganos y en las enfermedades autoinmunes. Como el metabolismo de FK-506 difiere bastante en los pacientes, la terapia se dirige midiendo los niveles de fármaco en sangre completa. La sangre se enviará a un laboratorio de pruebas para medir los niveles de FK-506. Las dosis de inmunosupresores objetivo son de 5-15 ng/ml. En este estudio se tiene por objetivo dosis mucho más bajas (véase anteriormente). Los pacientes recibirán el fármaco del estudio durante la duración del estudio. El fármaco se administrará en un frasco preparado, lo que permite monitorizar la ingesta de fármaco. Este dispositivo se llama Sistema de Monitorización de Eventos de Medicamentos (MEMS) y para que se monitorice la ingesta de fármaco adecuadamente. Los pacientes siempre deben sacar un comprimido cada vez del frasco.

La participación en el estudio dura aproximadamente 16 semanas. Durante este tiempo, los pacientes deberán visitar la clínica aproximadamente 4-5 veces.

#### *Procedimientos de estudio*

30 Si un paciente acepta participar en este estudio, primero firmará este formulario de consentimiento. Después de que los pacientes hayan firmado, fechado y recibido una copia de este formulario de consentimiento, tendrán la visita de selección del estudio para garantizar que el paciente sea elegible para tomar parte en este estudio. Para determinar la elegibilidad del paciente también pueden usarse resultados de pruebas anteriores (ecocardiograma, examen físico, pruebas de función pulmonar, cateterismo del corazón derecho (RHC)).

**REIVINDICACIONES**

1. El compuesto FK506 para su uso en el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar en un sujeto humano que tiene hipertensión arterial pulmonar asociada con la señalización defectuosa de BMPR2, en donde dicho FK506 se administra en una dosificación de 0,002 mg/kg del peso del sujeto por día hasta 0,05 mg/kg del peso del sujeto por día.
- 5 2. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, en donde el sujeto tiene una expresión reducida de BMPR2, ALK1 o endoglina.
3. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, en donde el sujeto tiene hipertensión arterial pulmonar hereditaria provocada por una mutación en BMPR2.
- 10 4. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, en donde el sujeto tiene hipertensión arterial pulmonar hereditaria provocada por una mutación en ALK1.
5. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, en donde el sujeto tiene hipertensión arterial pulmonar hereditaria provocada por una mutación en endoglina.
6. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, en donde dicha dosificación proporciona una concentración en suero de FK506 de 0,1 - 0,2 ng/ml.
- 15 7. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, en donde el compuesto se administra por vía oral.
8. El compuesto FK506 para su uso en la prevención de la hipertensión arterial pulmonar asociada con la señalización defectuosa de BMPR2 en un sujeto humano, en donde FK506 se administra en una dosificación de 0,002 mg/kg del peso del sujeto por día hasta 0,05 mg/kg del peso del sujeto por día.