

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 969 532**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/5355 (2006.01)
G01N 33/50 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.05.2015 PCT/US2015/031345**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **26.11.2015 WO15179276**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.05.2015 E 15725213 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.11.2023 EP 3145513**

(54) Título: **3-(4-((4-(Morfolinometil-bencil)oxi)-1-oxoisooindolin-2-il)piperidin-2,6-diona para el tratamiento de lupus eritematoso sistémico**

(30) Prioridad:

**19.05.2014 US 201462000428 P
22.09.2014 US 201462053626 P**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.05.2024

(73) Titular/es:

**CELGENE CORPORATION (100.0%)
Route 206 & Province Line Road
Princeton, NJ 08543, US**

(72) Inventor/es:

**SCHAFER, PETER H.;
WU, LEI y
YE, YING**

(74) Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 969 532 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

3-(4-((4-(Morfolinometil-bencil)oxi)-1-oxoisooindolin-2-il)piperidin-2,6-diona para el tratamiento de lupus eritematoso sistémico

5

1. CAMPO

Se proporcionan aquí métodos para tratar, prevenir y/o gestionar el lupus eritematoso sistémico (LES), o uno o más síntomas del mismo, usando el Compuesto I o una sal farmacéuticamente aceptables, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo, en los que el Compuesto I es (*S*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetilbenciloxy)-1-oxo-1,3-dihidro-isooindol-2-il]piperidin-2,6-diona. También se describen aquí composiciones farmacéuticas y regímenes de dosificación para dicho tratamiento, prevención y/o gestión.

2. ANTECEDENTES

15

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune multiorgánica de etiología desconocida que presenta muchas manifestaciones clínicas. Casi cualquier órgano puede verse afectado, pero las manifestaciones más comunes son cutáneas, musculoesqueléticas y renales. El LES suele afectar a mujeres jóvenes en edad fértil de 15 a 44 años. La prevalencia del LES es de 300.000 pacientes en los Estados Unidos y de 4 millones de pacientes en todo el mundo, con una incidencia anual de 15.000 sólo en los Estados Unidos.

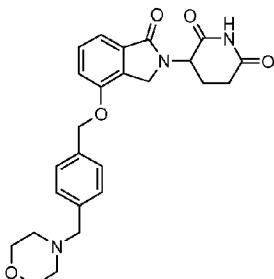
La patogénesis del LES probablemente implica una variedad de componentes asociados con factores tanto genéticos como ambientales. La susceptibilidad a la enfermedad está influida por genes relacionados con la respuesta inmune y los genes del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I y II. La susceptibilidad adicional surge de las interacciones entre el entorno hormonal y la eje hipotálamo-pituitario-suprarrenal. Además, el desarrollo de LES se asocia con una respuesta inmune defectuosa que afecta la eliminación de células apoptóticas y a los complejos inmunes. La pérdida de inmunotolerancia, el exceso de ayuda de las células T, la supresión defectuosa de las células B, y el cambio de las respuestas inmunes T auxiliares 1 (Th1) a Th2 y Th17 conducen a la hiperactividad de las células B y la producción de anticuerpos patógenos. Los factores externos tales como los productos químicos, los fármacos, la luz ultravioleta, la dieta y los virus también contribuyen a la aparición de la enfermedad.

Puesto que LES es una enfermedad con altibajos, a menudo se controla con AINE o fármacos inmunosupresores de baja potencia (antipalúdicos, y corticosteroides en dosis bajas) para la sintomatología más leve (manifestación muscoesquelética, manifestación cutánea, y serositis). El uso más prolongado y potente de corticosteroides, así como de fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FAME) no biológicos, son tratamientos estándar que también están disponibles para tratar a aquellos pacientes que presentan afectación de órganos importantes. Junto con la terapia estándar, existen terapias con FAME biológicos para aumentar el tratamiento de aquellos pacientes con una enfermedad más extensa. Belimumab, un anticuerpo monoclonal e inhibidor específico del estimulador de linfocitos B, se ha aprobado recientemente para uso junto con corticosteroides y otras terapias estándar para LES positivo para autoanticuerpos. Además, Rituximab, un agotador de células B, a menudo se usa de forma no autorizada como medicamento de rescate para pacientes que no responden al tratamiento estándar. Sin embargo, todavía existe la necesidad de fármacos profilácticos o terapéuticos que puedan usarse para tratar o prevenir LES.

3. SUMARIO

45

Se proporciona aquí un compuesto para uso en métodos de tratamiento, gestión o prevención del lupus eritematoso sistémico (LES), que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I



Compuesto I,

50

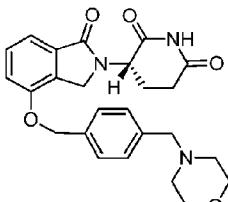
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezcla racémica del mismo, en el que el compuesto se administra en una cantidad de 0,15 mg a 0,6 mg por día, y en el que la administración del compuesto continúa durante un período de 56 días.

55 En una realización, el compuesto es 3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxy)-1-oxo-1,3-dihidro-isooindol-2-il]piperidin-2,6-diona.

En una realización, el compuesto es una sal farmacéuticamente aceptable de 3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona.

5 En una realización, el compuesto es hidrocloruro de 3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona.

En una realización, el compuesto es (*S*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona, que tiene la siguiente estructura:



10 Compuesto IA,

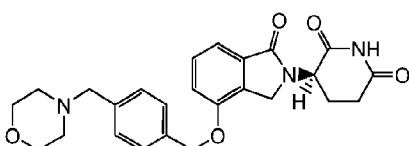
o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, o tautómero del mismo.

15 En una realización, el compuesto es (*S*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona.

En una realización, el compuesto es una sal farmacéuticamente aceptable de (*S*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona.

20 En una realización, el compuesto es hidrocloruro de (*S*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona.

En una realización, el compuesto es (*R*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona, que tiene la siguiente estructura:



25 Compuesto IB,

o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, o tautómero del mismo.

30 En una realización, el compuesto es (*R*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona.

En una realización, el compuesto es una sal farmacéuticamente aceptable de (*R*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona.

35 En una realización, el compuesto es hidrocloruro de (*R*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona.

En ciertas realizaciones, se tratan, gestionan, y/o previenen uno o más síntomas de LES.

40 También se describen aquí composiciones farmacéuticas, formas de dosificación unitaria individuales, y kits adecuados para uso en el tratamiento, prevención, mejora y/o gestión de LES, que comprenden el Compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo, opcionalmente en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales.

45 También se describen aquí métodos para identificar un sujeto que tiene LES y que probablemente responda a un tratamiento con el Compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezcla racémica del mismo.

50 También se proporciona aquí el Compuesto I para uso en métodos para evaluar la eficacia del Compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezcla racémica del mismo, en el tratamiento, prevención o gestión de LES.

4. BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La FIG. 1 es una ilustración esquemática del diseño general del estudio clínico para el Compuesto 1A en el lupus eritematoso sistémico.

5 Las FIG. 2A, FIG. 2B, y FIG. 2C representan la sobreexpresión de ARNm de CRBN, IKZF1 e IKZF3 en células mononucleares de sangre periférica de LES.

10 Las FIG. 3A, FIG. 3B, FIG. 3C y FIG. 3D representan que el Compuesto 1A redujo los niveles de proteína Aiolos e Ikaros en subconjuntos de leucocitos de sangre completa.

15 Las FIG. 4A y FIG. 4B representan los efectos de la estimulación de las células B y el Compuesto 1A sobre los niveles de proteína Ikaros y Aiolos a lo largo del tiempo.

Las FIG. 5A y FIG. 5B representan que el Compuesto 1A inhibió la producción de autoanticuerpos de LES in vitro.

20 La FIG. 6A representa que el Compuesto 1A reduce la expresión de Aiolos en células B CD19+ en voluntarios sanos.

25 La FIG. 6B representa que el Compuesto 1A redujo la expresión de Aiolos en células T CD3+ en voluntarios sanos.

La FIG. 7A representa que el Compuesto 1A reduce los recuentos de células B CD19+ en sangre periférica en voluntarios sanos.

30 La FIG. 7B representa el efecto del Compuesto 1A sobre los recuentos de células T CD3+ de sangre periférica en voluntarios sanos.

35 La FIG. 8A representa que el Compuesto 1A aumentó de forma dependiente de la dosis la producción de IL-2 en voluntarios sanos.

La FIG. 8B representa que el Compuesto 1A disminuyó de forma dependiente de la dosis la producción de IL-1 β ex vivo en voluntarios sanos.

35 5. DESCRIPCIÓN DETALLADA

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados aquí tienen el mismo significado que el entendido habitualmente por un experto normal en la técnica. En caso de que exista una pluralidad de definiciones para un término aquí, prevalecerán las de esta sección a menos que se indique lo contrario.

40 Como se usa aquí, y a menos que se indique lo contrario, los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento" se refieren a aliviar o reducir la gravedad de una enfermedad o un síntoma asociado con la enfermedad o afección que se está tratando. El término contempla que un compuesto proporcionado aquí se administra después de la aparición de una enfermedad o un síntoma asociado con la enfermedad o afección que se está tratando.

45 Como se usa aquí, "prevenir", "prevención" y otras formas de la palabra incluyen la inhibición del inicio o progresión de una enfermedad o trastorno o un síntoma de la enfermedad o trastorno particular. En algunas realizaciones, los sujetos con antecedentes familiares de cáncer son candidatos para regímenes preventivos. Generalmente, en el contexto del cáncer, el término "prevención" se refiere a la administración del fármaco antes de la aparición de los signos o síntomas 50 de la enfermedad que se está tratando.

Como se usa aquí, y a menos que se indique lo contrario, el término "gestionar" abarca prevenir la recurrencia de la enfermedad o trastorno particular en un sujeto que la había padecido, alargar el tiempo que un sujeto que había padecido la enfermedad o trastorno permanece en remisión, reducir las tasas de mortalidad de los sujetos, y/o mantener una reducción en la gravedad o evitar un síntoma asociado con la enfermedad o afección que se está gestionando.

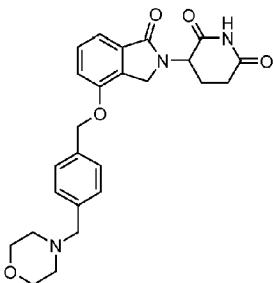
Como se usa aquí, el término "sujeto" o "paciente" significa un animal, típicamente un mamífero, incluyendo un ser humano.

Como se usa aquí, y a menos que se especifique lo contrario, las expresiones "cantidad terapéuticamente eficaz" y "cantidad eficaz" de un compuesto se refieren a una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento, prevención y/o gestión de una enfermedad, para retrasar o minimizar uno o más síntomas asociados a la enfermedad o trastorno a tratar. Las expresiones "cantidad terapéuticamente eficaz" y "cantidad eficaz" pueden abarcar una cantidad que mejora la terapia general, reduce o evita síntomas o causas de enfermedad o trastorno, o mejora la eficacia terapéutica de otro agente terapéutico.

- Como se usa aquí, y a menos que se especifique lo contrario, la expresión "cantidad profilácticamente eficaz" de un compuesto es una cantidad suficiente para prevenir una enfermedad o afección, o uno o más síntomas asociados con la enfermedad o afección, o prevenir su recurrencia. Una cantidad profilácticamente eficaz de un compuesto significa una cantidad de agente terapéutico, solo o combinado con otros agentes, que proporciona un beneficio profiláctico en la prevención de la enfermedad. La expresión "cantidad profilácticamente eficaz" puede englobar una cantidad que mejore la profilaxis global o potencie la eficacia profiláctica de otro agente profiláctico.
- Como se usa aquí y a menos que se indique lo contrario, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" incluye, pero no se limita a, una sal de un grupo ácido que puede estar presente en los compuestos proporcionados aquí. En ciertas condiciones ácidas, el compuesto puede formar una amplia variedad de sales con diversos ácidos orgánicos e inorgánicos. Los ácidos que se pueden usar para preparar sales farmacéuticamente aceptables de tales compuestos básicos son aquellos que forman sales que comprenden aniones farmacológicamente aceptables, incluyendo, pero no limitados a, acetato, bencenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bitartrato, bromuro, edetato de calcio, camsilato, carbonato, cloruro, bromuro, yoduro, citrato, dihidrocloruro, edetato, edisilato, estolato, esilato, fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicolilarsanilato, hexilresorcinato, hidrabamina, hidroxinaftoato, isetonato, lactato, lactobionato, malato, maleato, mandelato, metanosulfonato (mesilato), metilsulfato, muscato, napsilato, nitrato, pantotenato, fosfato/difosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, succinato, sulfato, tanato, tartrato, teoclato, trietioduro, y pamoato.
- Como se usa aquí, y a menos que se indique lo contrario, el término "hidrato" significa un compuesto proporcionado aquí o una sal del mismo, que incluye además una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de agua unida por fuerzas intermoleculares no covalentes. Los hidratos pueden ser cristalinos o no cristalinos.
- Como se usa aquí, y a menos que se indique lo contrario, el término "solvato" significa un solvato formado a partir de la asociación de una o más moléculas de disolvente al compuesto proporcionado aquí. El término "solvato" incluye hidratos (por ejemplo, monohidrato, dihidrato, trihidrato, tetrahidrato, y similares). Los solvatos pueden ser cristalinos o no cristalinos.
- Como se usa aquí, y a menos que se especifique lo contrario, el término "estereoisómero" abarca todos los compuestos enantioméricamente/estereoméricamente puros y enantioméricamente/estereoméricamente enriquecidos proporcionados aquí.
- Como se usa aquí, y a menos que se indique lo contrario, la expresión "estereoméricamente puro" o "enantioméricamente puro" significa que un compuesto comprende un estereoisómero y está sustancialmente libre de su contraestereoisómero o contraenantiómero. Por ejemplo, un compuesto es estereomérica o enantioméricamente puro cuando el compuesto contiene 80 %, 90 % o 95 % o más de un estereoisómero y 20 %, 10 % o 5 % o menos del contraestereoisómero. En ciertos casos, un compuesto proporcionado aquí se considera ópticamente activo o estereomérica/enantioméricamente puro (es decir, sustancialmente la forma R o sustancialmente la forma S) con respecto a un centro quiral cuando el compuesto tiene alrededor de 80 % de ee (exceso enantiomérico) o mayor, preferiblemente, igual o mayor que 90 % ee con respecto a un centro quiral particular, y más preferiblemente 95 % ee con respecto a un centro quiral particular.
- Como se usa aquí, y a menos que se indique lo contrario, la expresión "enriquecido estereoméricamente" o "enriquecido enantioméricamente" abarca mezclas racémicas así como otras mezclas de estereoisómeros de compuestos proporcionados aquí (por ejemplo, R/S = 30/70, 35/65, 40/60, 45/55, 55/45, 60/40, 65/35 y 70/30).
- Los términos "coadministración" y "en combinación con" incluyen la administración de dos o más agentes terapéuticos (por ejemplo, el Compuesto I o una composición proporcionada aquí y otro modulador de la actividad leucocítica, incluyendo la actividad de células B y/o células T, monocitos, macrófagos, y otros tipos de células linfoides o mieloídes, u otro agente activo) ya sea de forma simultánea, concurrente o secuencial sin límites de tiempo específicos. En una realización, el Compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo, y al menos otro agente están presentes en la célula o en el cuerpo del sujeto al mismo tiempo o ejercen su efecto biológico o terapéutico al mismo tiempo. En una realización, el o los agentes terapéuticos están en la misma composición o forma de dosificación unitaria. En otra realización, el o los agentes terapéuticos están en composiciones o formas de dosificación unitaria separadas.

55 5.1 COMPUESTO I

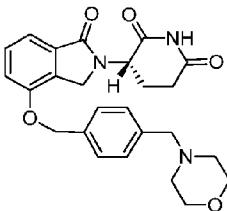
En ciertas realizaciones, el Compuesto I para uso en los métodos proporcionados aquí, incluyendo la terapia de combinación, y en las composiciones descritas aquí es un compuesto de fórmula:



Compuesto I,

o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo.

- 5 En una realización, el compuesto es (*S*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona, que tiene la siguiente estructura:



Compuesto IA,

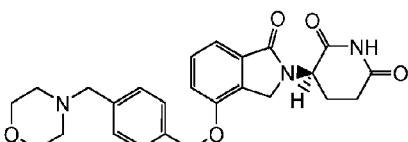
- 10 o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, o tautómero del mismo.

En una realización, el compuesto es (*S*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona.

- 15 En una realización, el compuesto es una sal farmacéuticamente aceptable de (*S*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona.

En una realización, el compuesto es hidrocloruro de (*S*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona.

- 20 En una realización, el compuesto es (*R*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona, que tiene la siguiente estructura:



Compuesto IB,

- 25 o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, o tautómero del mismo.

En una realización, el compuesto es (*R*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona.

- 30 En una realización, el compuesto es una sal farmacéuticamente aceptable de (*R*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona.

En una realización, el compuesto se selecciona de 3-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-piperidin-2,6-diona, hidrocloruro de 3-[4-(4-morfolin-4-ilmetilbenciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindo-2-il]piperidin-2,6-diona, (*R*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetilbenciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindo-2-il]piperidin-2,6-diona, hidrocloruro de (*R*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetilbenciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindo-2-il]piperidin-2,6-diona, (*S*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetilbenciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindo-2-il]piperidin-2,6-diona e hidrocloruro de (*S*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetilbenciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindo-2-il]piperidin-2,6-diona.

- 40 El compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo, se puede preparar mediante métodos conocidos por un experto en la técnica, por ejemplo según el procedimiento descrito en la Publicación de EE.UU. nº 2011/0196150.

En el Ejemplo 1 se describe un método ejemplar para la preparación.

5.2 COMPUESTO PARA USO EN MÉTODOS DE TRATAMIENTO

- 5 En ciertas realizaciones, se proporciona aquí el compuesto de fórmula I para uso en métodos de tratamiento, prevención y/o gestión de lupus eritematoso sistémico (LES), o un síntoma del mismo según las reivindicaciones, que comprende administrar una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz del Compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo, a un paciente que tiene LES. En una realización, se proporcionan aquí métodos para tratar, prevenir y/o gestionar el LES o un síntoma del mismo según las reivindicaciones, que comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de (S)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetilbenciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isooindo-2-il]piperidin-2,6-diona, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, a un paciente que tiene LES.

- 10 En una realización, se proporciona aquí el compuesto de fórmula I para uso en métodos para prevenir el LES o un síntoma del mismo según las reivindicaciones, que comprende administrar una cantidad eficaz del Compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo, a un paciente con riesgo de tener LES. En una realización, se proporciona aquí el compuesto de fórmula I para uso en métodos para prevenir el LES o un síntoma del mismo, que comprende administrar una cantidad eficaz de (S)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetilbenciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isooindo-2-il]piperidin-2,6-diona, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de la misma, a un paciente con riesgo de tener LES, según las reivindicaciones.

- 15 La frase "lupus eritematoso sistémico" se usa indistintamente aquí con LES y lupus, y se refiere a todas las manifestaciones de la enfermedad tal como se conoce en la técnica (incluyendo remisiones y reapariciones). En el LES, la hiperactividad anormal de los linfocitos B y la producción anormal masiva de autoanticuerpos de inmunoglobulina gamma (IgG) desempeñan un papel clave. Este proceso patológico da como resultado el secuestro y destrucción de células recubiertas de Ig, la fijación y escisión de proteínas del complemento, y la liberación de quimiotaxinas, péptidos vasoactivos y enzimas dañinas en los tejidos (Hahn BH. Systemic Lupus Erythematosus. En: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson, JL, editores. En: Harrison's Principles of Internal Medicine (16^a edición). Nueva York (EE. UU.): McGraw-Hill; 2005. págs.1960-1967).

- 20 30 Los síntomas de LES varían de persona a persona, y pueden aparecer y desaparecer. En la mayoría de los pacientes, los síntomas incluyen dolor e hinchaçon de las articulaciones. Las articulaciones frecuentemente afectadas son los dedos, las manos, las muñecas, y las rodillas. Algunos pacientes desarrollan artritis. Otros síntomas comunes incluyen: dolor en el pecho al respirar profundamente, fatiga, fiebre sin otra causa, malestar general, desasosiego, o sensación de enfermar (malestar general), pérdida de cabello, llagas en la boca, inflamación de los ganglios linfáticos, sensibilidad a la luz solar, erupción cutánea -una erupción en forma de "mariposa" sobre las mejillas y el puente de la nariz afecta alrededor de a la mitad de las personas con LES; en algunos pacientes, la erupción empeora con la luz del sol, y también puede estar generalizada.

- 35 40 Otros síntomas dependen de la parte del cuerpo afectada, y pueden incluir los siguientes:

Cerebro y sistema nervioso: dolores de cabeza, entumecimiento, hormigueo, convulsiones, problemas de visión, cambios de personalidad,

- 45 Aparato digestivo: dolor abdominal, náuseas, y vómitos,

Corazón: ritmos cardíacos anormales (arritmias),

- 50 Pulmón: tos con sangre y dificultad para respirar, y

Piel: color de piel irregular, dedos que cambian de color cuando hace frío (fenómeno de Raynaud).

En una realización, sólo se manifiestan síntomas cutáneos en el LES, es decir, lupus discoide.

- 55 55 En una realización, el LES es LES predominante en la piel.

- 60 En una realización, se proporciona aquí el compuesto de fórmula I para uso en métodos para tratar el LES moderado, grave, o muy grave. La expresión "LES grave", como se usa aquí, se refiere a una afección de LES en la que el paciente tiene uno o más síntomas graves o potencialmente mortales (tales como anemia hemolítica, afectación extensa del corazón o los pulmones, enfermedad renal, o afectación del sistema nervioso central).

65 Se describen aquí además métodos para lograr uno o más criterios de valoración clínicos asociados con el LES, que comprenden administrar una cantidad eficaz de Compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo, a un paciente que lo necesita.

- Se describen adicionalmente aquí métodos para aumentar la supervivencia global, la tasa de respuesta objetiva, el tiempo hasta la progresión, la supervivencia libre de progresión y/o el tiempo hasta el fracaso del tratamiento de un paciente que tiene LES, que comprende administrar una cantidad eficaz de Compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo, al paciente.
- 5 La dosis de Compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo, a administrar a un paciente es bastante variable, y puede estar sujeta al criterio de un profesional de la salud. Las dosis de Compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo, varían dependiendo de factores tales como: la indicación o síntomas específicos a tratar, prevenir o gestionar; la edad y estado de un paciente; y la cantidad de segundo agente activo usado, si lo hubiera. En general, el Compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo, se puede administrar de una a cuatro o más veces al día en una dosis de alrededor de 0,005 mg/kg de peso corporal del paciente a alrededor de 10 mg/kg del peso corporal del paciente, pero la dosis anterior puede variarse adecuadamente dependiendo de la edad, el peso corporal y la condición médica del paciente y el tipo de administración. Por ejemplo, la dosis puede ser alrededor de 0,01 mg/kg de peso corporal del paciente a alrededor de 5 mg/kg de peso corporal del paciente, de alrededor de 0,05 mg/kg de peso corporal del paciente a alrededor de 1 mg/kg de peso corporal del paciente, alrededor de 0,1 mg/kg de peso corporal del paciente a alrededor de 0,75 mg/kg de peso corporal del paciente, o alrededor de 0,25 mg/kg de peso corporal del paciente a alrededor de 0,5 mg/kg de peso corporal del paciente.
- 10 20 En una realización, se administra una dosis al día. En cualquier caso dado, la cantidad administrada de Compuesto I o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo dependerá de factores tales como la solubilidad del componente activo, la formulación usada, y la vía de administración. En una realización, la aplicación de una concentración tópica proporciona exposiciones o concentraciones intracelulares 25 de alrededor de 0,01 - 10 µM.
- 25 30 Por ejemplo, el Compuesto I o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo, se puede usar en una cantidad de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 1000 mg por día, y se puede ajustar de forma convencional (por ejemplo, la misma cantidad administrada cada día del período de tratamiento, prevención o gestión), en ciclos (por ejemplo, una semana sí, una semana no), o en una cantidad que aumenta o disminuye durante el curso del tratamiento, prevención, o gestión. Por ejemplo, la dosis puede ser de alrededor de 1 mg a alrededor de 300 mg, de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 150 mg, de alrededor de 1 mg a alrededor de 200 mg, de alrededor de 10 mg a alrededor de 100 mg, de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 50 mg, de alrededor de 1 mg a alrededor de 50 mg, de alrededor de 10 mg a alrededor de 50 mg, de alrededor de 20 mg a alrededor de 30 mg, o de alrededor de 1 mg a alrededor de 20 mg. En otras realizaciones, la dosis puede ser de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 100 mg, de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 50 mg, de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 25 mg, de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 20 mg, de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 15 mg, de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 10 mg, de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 7,5 mg, de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 5 mg, de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 4 mg, de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 3 mg, de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 2 mg, o desde 40 alrededor de 1 mg a alrededor de 1 mg.
- 40 45 En algunas realizaciones, se administra el Compuesto 1A, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo. En algunas realizaciones, la dosis de Compuesto 1A, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, es de 0,15 mg a 0,6 por día. En una realización, la dosis de Compuesto 1A, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, es 0,3 mg administrados en días alternos. En una realización, la dosis de Compuesto 1A, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, es 0,3 mg administrados todos los días. En una realización, la dosis de Compuesto 1A, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, es 0,6 mg y 0,3 mg administrados en días alternos. En una realización, la dosis de Compuesto 1A, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, es 0,6 mg administrados todos los días.
- 50 55 60 En algunas realizaciones, los pacientes comienzan con un tratamiento de dosis alta, y si persisten efectos adversos significativos, las dosis se ajustan, es decir, se reducen, en consecuencia. Por ejemplo, los pacientes pueden comenzar con una dosis de 0,6 mg administrada diariamente de Compuesto 1A, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, y si persisten efectos adversos significativos, entonces pueden ajustar la dosis gradualmente hasta 0,6 mg y 0,3 mg administrados en días alternos, después hasta 0,3 mg administrados todos los días, y hasta 0,3 mg administrados en días alternos.
- Según la invención, la administración del compuesto continúa durante un período de 56 días. En aún otra realización, la administración del compuesto continúa durante un período de 84 días.
- En algunas realizaciones, el compuesto se administra por vía oral. En una realización, el compuesto se administra en una cápsula. En una realización, la cápsula tiene una cantidad de alrededor de 0,3 mg. En otra realización, el compuesto se administra en un comprimido.

También se describe aquí un método para identificar un sujeto que tiene lupus eritematoso sistémico (LES) que probablemente responda a un tratamiento con el Compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezcla racémica del mismo, que comprende:

- 5 (a) determinar el nivel de un biomarcador en una primera muestra del sujeto, en el que el biomarcador se selecciona del grupo que consiste en CCRN, IKZF1 (Ikarios), e IKZF3 (Aiolos); y
- 10 (b) comparar el nivel del biomarcador en la primera muestra con un nivel de referencia del biomarcador; en el que es probable que el sujeto responda al tratamiento si el nivel del biomarcador en la primera muestra es mayor que el nivel de referencia del biomarcador.

Por ejemplo, el método comprende además administrar al sujeto una cantidad eficaz del compuesto.

Por ejemplo, la referencia se prepara usando una segunda muestra obtenida de un sujeto sano que no tiene LES; y en la que la segunda muestra proviene de la misma fuente que la primera muestra.

Por ejemplo, el biomarcador es CCRN. Por ejemplo, el biomarcador es IKZF1. Por ejemplo, el biomarcador es IKZF3.

Por ejemplo, se mide el nivel de sólo uno de los biomarcadores. Por ejemplo, los niveles de dos o más biomarcadores se monitorizan simultáneamente.

Por ejemplo, la primera muestra son células mononucleares de sangre periférica (PBMC). Por ejemplo, la primera muestra son leucocitos de sangre completa. Por ejemplo, los leucocitos de sangre completa son células B CD19+, células T CD3+, monocitos CD14+, o granulocitos.

25 Por ejemplo, los niveles de uno o más de los biomarcadores se miden determinando los niveles de ARNm de los biomarcadores. Por ejemplo, los niveles de uno o más de los biomarcadores se miden determinando los niveles de ADNc de los biomarcadores. Por ejemplo, los niveles de uno o más de los biomarcadores se miden determinando los niveles de proteína de los biomarcadores.

30 Por ejemplo, el compuesto es (S)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetilbenciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindo-2-il]piperidin-2,6-diona. En otra realización, el compuesto es hidrocloruro de (S)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetilbenciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindo-2-il]piperidin-2,6-diona.

35 En algunas realizaciones, se proporciona aquí un compuesto de fórmula I para uso en un método para evaluar la eficacia del Compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezcla racémica del mismo, en el tratamiento, prevención o gestión de lupus eritematoso sistémico (LES), que comprende:

- 40 (a) administrar el compuesto a un sujeto que tiene LES;
- (b) obtener una primera muestra del sujeto;
- (c) determinar el nivel de un biomarcador en la primera muestra; y
- 45 (d) comparar el nivel del biomarcador de la etapa (c) con un nivel de referencia del biomarcador, en el que un cambio en el nivel en comparación con la referencia es indicativo de la eficacia del compuesto en el tratamiento de LES, en el que el biomarcador es un anticuerpo de LES, recuento de células B de sangre periférica, recuento de células T de sangre periférica, IL-1beta o IL-2.

50 En una realización, el método comprende además ajustar la cantidad del compuesto administrado al sujeto.

En una realización, la referencia se prepara usando una segunda muestra obtenida de un sujeto sano que no tiene LES; y en la que la segunda muestra proviene de la misma fuente que la primera muestra. En otra realización, la referencia se prepara usando una segunda muestra obtenida del sujeto antes de la administración del compuesto; y en la que la segunda muestra proviene de la misma fuente que la primera muestra.

En una realización, el biomarcador es CCRN. En otra realización, el biomarcador es IKZF1. En aún otra realización, el biomarcador es IKZF3. En aún otra realización, el biomarcador es un autoanticuerpo de LES. En una realización, el autoanticuerpo de LES es un autoanticuerpo anti-ADNbc. En otra realización, el autoanticuerpo de LES es un autoanticuerpo antifosfolípido. En aún otra realización, el biomarcador es el recuento de células B de sangre periférica. En aún otra realización, el biomarcador es el recuento de células T de sangre periférica. En aún otra realización, el biomarcador es IL-1β. En aún otra realización, el biomarcador es IL-2.

En una realización, una disminución en el nivel del biomarcador en la primera muestra en comparación con la referencia es indicativa de la eficacia del compuesto en el tratamiento de LES. En otra realización, un aumento en el nivel del

- biomarcador en la primera muestra en comparación con la referencia es indicativo de la eficacia del compuesto en el tratamiento de LES.
- En una realización, se mide el nivel de sólo uno de los biomarcadores. En otra realización, los niveles de dos o más biomarcadores se monitorizan simultáneamente.
- En una realización, la primera muestra son células mononucleares de sangre periférica (PBMC). En otra realización, la primera muestra son leucocitos de sangre completa. En una realización, los leucocitos de sangre completa son células B CD19+, células T CD3+, monocitos CD14+, o granulocitos.
- En una realización, los niveles de uno o más de los biomarcadores se miden determinando los niveles de ARNm de los biomarcadores. En otra realización, los niveles de uno o más de los biomarcadores se miden determinando los niveles de ADNc de los biomarcadores. En aún otra realización, los niveles de uno o más de los biomarcadores se miden determinando los niveles de proteína de los biomarcadores.
- En una realización, el compuesto es (S)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetilbenciloxy)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindo-2-il]piperidin-2,6-diona. En otra realización, el compuesto es hidrocloruro de (S)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetilbenciloxy)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindo-2-il]piperidin-2,6-diona.
- ### 5.3 TERAPIA COMBINADA
- El compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo, se puede combinar con otros compuestos farmacológicamente activos ("segundos agentes activos") en métodos y composiciones proporcionados aquí. Ciertas combinaciones pueden funcionar de forma sinérgica en el tratamiento de LES y de las afecciones y síntomas asociados con LES. El compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo, también puede funcionar para aliviar los efectos adversos asociados con ciertos segundos agentes activos, y viceversa.
- En los métodos y composiciones proporcionados aquí se pueden usar uno o más segundos ingredientes o agentes activos. Los segundos agentes activos pueden ser moléculas grandes (por ejemplo, proteínas) o moléculas pequeñas (por ejemplo, moléculas sintéticas inorgánicas, organometálicas, u orgánicas).
- En otra realización, se proporciona aquí la administración de un segundo agente terapéutico, en la que el segundo agente terapéutico es un fármaco antiinflamatorio, por ejemplo un fármaco antiinflamatorio esteroideo o un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), acetaminofeno, naproxeno, ibuprofeno, ácido acetilsalicílico, y similar. En una realización más específica en la que se administra un AINE, también se puede administrar un inhibidor de la bomba de protones (IBP), por ejemplo omeprazol. En una realización, el agente antiinflamatorio es un corticosteroide. En otra realización, el agente antiinflamatorio es colchicina.
- En otra realización, el segundo agente terapéutico es un compuesto inmunomodulador o un compuesto inmunsupresor, tal como azatioprina (Imuran™, Azasan™), metotrexato (Rheumatrex™, Trexall™), penicilamina (Depen™, Cuprimine™), ciclofosfamida (Cytoxan™), micofenalato (CellCept™, Myfortic™), bosentán (Tracleer®), prednisona (Deltasone™, Liquid Pred™), y un inhibidor de PDE5. En otra realización, cuando el individuo afectado tiene ulceraciones digitales e hipertensión pulmonar, se puede administrar un vasodilatador tal como prostaciclina (Iloprost).
- En otra realización, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de HDAC, tal como romidepsina, vorinostat, panobinostat, ácido valproico, o belinostat; o un agente biológico, tal como una interleucina, un anticuerpo monoclonal inmunomodulador, o el bacilo de Calmette-Guérin (BCG).
- En otra realización, el segundo agente terapéutico es un inhibidor de los receptores ActRII o un inhibidor de activina-ActRII. Los inhibidores de los receptores ActRII incluyen inhibidores de ActRIIA e inhibidores de ActRIIB. Los inhibidores de los receptores ActRII pueden ser polipéptidos que comprenden dominios de unión a activina de ActRII. En ciertas realizaciones, el dominio de unión a activina que comprende polipéptidos está unido a una porción Fc de un anticuerpo (es decir, se genera un conjugado que comprende un dominio de unión a activina que comprende polipéptido de un receptor ActRII y una porción Fc de un anticuerpo). En ciertas realizaciones, el dominio de unión a activina está unido a una porción Fc de un anticuerpo mediante un enlazador, por ejemplo un enlazador peptídico.
- Ejemplos de proteínas que no son anticuerpos seleccionadas para la unión a activina o a ActRIIA, y métodos para el diseño y selección de las mismas, se encuentran en los documentos WO/2002/088171, WO/2006/055689, WO/2002/032925, WO/2005/037989, US 2003/0133939, y US 2005/0238646.
- En una realización, el inhibidor de los receptores ActRII es ACE-11. En otra realización, el inhibidor de los receptores ActRII es ACE-536.

En otra realización, el segundo agente terapéutico es un agente que se usa convencionalmente para tratar LES. Ejemplos de dichos agentes incluyen, pero no se limitan a, un AINE, un corticosteroide, un fármaco antirreumático modificador de la enfermedad (FAME) no biológico, y una terapia con FAME biológico (por ejemplo, belimumab o rituximab).

- 5 Puede administrarse cualquier combinación de los agentes terapéuticos anteriores, adecuada para el tratamiento de LES o sus síntomas. Tales agentes terapéuticos se pueden administrar en cualquier combinación con el Compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo, al mismo tiempo o como un ciclo de tratamiento separado.

10 5.4 TERAPIA DE CICLOS

En ciertas realizaciones, el Compuesto I, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezclas racémicas del mismo, se administra cíclicamente a un paciente. La terapia de ciclos implica la administración de un agente activo durante un período de tiempo, seguido de un descanso (es decir, la interrupción de la administración) durante un período de tiempo, y la repetición de esta administración secuencial. La terapia de ciclos puede reducir el desarrollo de resistencia a una o más de las terapias, evitar o reducir los efectos secundarios de una de las terapias, y/o mejorar la eficacia del tratamiento.

20 Por ejemplo, un compuesto proporcionado aquí se puede administrar diariamente en una dosis única o dividida en un ciclo de cuatro a seis semanas, con un período de descanso de alrededor de una semana o dos semanas. La terapia de ciclos permite además aumentar la frecuencia, el número, y la duración de los ciclos de dosificación. Por tanto, otra realización abarca la administración de un compuesto proporcionado aquí durante más ciclos de los típicos cuando se administra solo. En aún otra realización, un compuesto proporcionado aquí se administra durante un mayor número de ciclos de los que normalmente causarían toxicidad limitante de la dosis en un paciente al que no se le está administrando 25 también un segundo ingrediente activo.

30 Por ejemplo, un compuesto proporcionado aquí se administra diariamente y de forma continua durante tres o cuatro semanas a una dosis de alrededor de 0,03 mg a alrededor de 10 mg por día, seguido de un descanso de una o dos semanas. Por ejemplo, la dosis puede ser de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 8 mg, de alrededor de 0,3 mg a alrededor de 6 mg, de alrededor de 1 mg a alrededor de 4 mg, o alrededor de 2 mg, seguido de un descanso.

35 En una realización, un compuesto para uso proporcionado aquí y un segundo ingrediente activo se administran por vía oral, realizándose la administración del compuesto proporcionado aquí de 30 a 60 minutos antes del segundo ingrediente activo, durante un ciclo de cuatro a seis semanas. En otra realización, la combinación de un compuesto proporcionado aquí y un segundo ingrediente activo se administra mediante infusión intravenosa durante alrededor de 90 minutos en cada ciclo.

40 Normalmente, el número de ciclos durante los cuales se administra el tratamiento combinado a un paciente será de alrededor de uno a alrededor de 24 ciclos, de alrededor de dos a alrededor de 16 ciclos, o de alrededor de cuatro a alrededor de tres ciclos.

5.5 COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS Y FORMAS DE DOSIFICACIÓN

45 Las composiciones farmacéuticas se pueden usar en la preparación de formas farmacéuticas unitarias únicas individuales. Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación descritas aquí comprenden un compuesto proporcionado aquí, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, racemato, clatrato, o profármaco del mismo. Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación pueden comprender además uno o más excipientes.

50 Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación descritas aquí también pueden comprender uno o más ingredientes activos adicionales. Se describen más arriba ejemplos de ingredientes activos secundarios, o adicionales, opcionales.

55 Las formas de dosificación unitaria única descritas aquí son adecuadas para administración oral, mucosal (por ejemplo, nasal, sublingual, vaginal, bucal, o rectal), parenteral (por ejemplo, subcutánea, intravenosa, inyección en bolo, intramuscular, o intraarterial), tópica (por ejemplo, colirios u otras preparaciones oftálmicas), administración transdérmica o transcutánea a un paciente. Ejemplos de formas de dosificación incluyen, pero no se limitan a: comprimidos; comprimidos oblongos; cápsulas, tales como cápsulas de gelatina elásticas blandas; sellos; trociscos; pastillas; dispersiones; supositorios; polvos; aerosoles (por ejemplo, aerosoles nasales o inhaladores); geles; formas de dosificación líquidas adecuadas para administración oral o mucosal a un paciente, incluyendo suspensiones (por ejemplo, suspensiones líquidas acuosas o no acuosas, emulsiones de aceite en agua, o emulsiones líquidas de agua en aceite), disoluciones, y elixires; formas de dosificación líquidas adecuadas para administración parenteral a un paciente; colirios u otras preparaciones oftálmicas adecuadas para administración tópica; y sólidos estériles (por ejemplo, sólidos cristalinos o amorfos) que pueden reconstituirse para proporcionar formas de dosificación líquidas adecuadas para la administración parenteral a un paciente.

- La composición, la forma y el tipo de las formas farmacéuticas normalmente variarán según su uso. Por ejemplo, una forma farmacéutica usada en el tratamiento agudo de una enfermedad puede contener mayores cantidades de uno o más de los principios activos que comprende que una forma farmacéutica usada en el tratamiento crónico de la misma enfermedad. Similarmente, una forma farmacéutica parenteral puede contener cantidades más pequeñas de uno o más de los principios activos que comprende que una forma farmacéutica oral usada para tratar la misma enfermedad. Estas y otras formas en las que se usan las formas de dosificación específicas variarán entre sí y serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 20^a ed., Mack Publishing, Easton PA (2000).
- 5 Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación comprenden uno o más excipientes. Los excipientes adecuados se conocen bien por los expertos en la técnica de la farmacia y ejemplos no limitantes de excipientes adecuados se proporcionan en el presente documento. Si un excipiente particular es adecuado para la incorporación en una composición farmacéutica o forma farmacéutica depende de una variedad de factores bien conocidos en la técnica que incluyen, pero no se limitan a, la forma en que la forma farmacéutica se administrará a un paciente. Por ejemplo, formas farmacéuticas orales, tales como los comprimidos, pueden contener excipientes no aptos para su uso en formas farmacéuticas parenterales. La idoneidad de un excipiente particular también puede depender de los principios activos específicos en la forma farmacéutica. Por ejemplo, algunos excipientes, tales como la lactosa, pueden acelerar la descomposición de algunos principios activos, o cuando se exponen al agua. Los principios activos que comprenden aminas primarias o secundarias son particularmente susceptibles a dicha descomposición acelerada.
- 10 15 En consecuencia, se describen composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que contienen poca o ninguna lactosa y otros mono- o disacáridos. Como se usa en el presente documento, el término "sin lactosa" significa que la cantidad de lactosa presente, si la hay, es insuficiente para aumentar sustancialmente la tasa de degradación de un principio activo.
- 20 25 Las composiciones sin lactosa pueden comprender excipientes que son bien conocidos en la técnica, y se enumeran, por ejemplo, en la Farmacopea de EE.UU. (USP) 25-NF20 (2002). En general, las composiciones sin lactosa comprenden principios activos, un aglutinante/carga y un lubricante en cantidades farmacéuticamente compatibles y farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, las formas de dosificación sin lactosa comprenden ingredientes activos, celulosa microcristalina, almidón pregelatinizado, y estearato de magnesio.
- 30 35 También se describen composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras que comprenden ingredientes activos, ya que el agua puede facilitar la degradación de algunos compuestos. Por ejemplo, la adición de agua (p. ej., un 5 %) está aceptada de forma generalizada en la técnica farmacéutica como medio para simular el almacenamiento a largo plazo con el fin de determinar características tales como la semivida o la estabilidad de las formulaciones a lo largo del tiempo. Véase, p. ej., Jens T. Carstensen, *Drug Stability: Principles & Practice*, 2.^a Ed., Marcel Dekker, NY, NY, 1995, págs. 379-80. En efecto, el agua y el calor aceleran la descomposición de algunos compuestos. Así, el efecto del agua sobre una formulación puede ser de gran importancia, puesto que la condensación y/o humedad se encuentran comúnmente durante la fabricación, la manipulación, el envasado, el almacenamiento, el transporte y el uso de las formulaciones.
- 40 45 Las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación anhidras se pueden preparar usando ingredientes anhidros o que contienen poca humedad y condiciones de baja humedad o humedad baja. Las formas farmacéuticas y composiciones farmacéuticas que comprenden lactosa y al menos un principio activo que comprende una amina primaria o secundaria son anhidras si se espera un contacto substancial con la humedad y/o condensación durante la fabricación, envasado y/o almacenamiento.
- 50 Una composición farmacéutica anhidra se debería preparar y almacenar de manera que se mantenga su naturaleza anhidra. Por consiguiente, las composiciones anhidras se envasan, por ejemplo, usando materiales conocidos por prevenir la exposición al agua, de modo que puedan incluirse en kits de formulario adecuados. Los ejemplos de empaquetados adecuados incluyen, pero no se limitan a, láminas herméticamente selladas, plásticos, recipientes de dosis unitarias (por ejemplo, viales), envases alveolados y envases de tiras.
- 55 También se describen composiciones farmacéuticas y formas de dosificación que comprenden uno o más compuestos que reducen la velocidad a la que se descompondrá un ingrediente activo. Dichos compuestos, que se denominan en el presente documento "estabilizadores," incluyen, pero no se limitan a, antioxidantes, tales como ácido ascórbico, tampones del pH o tampones de sal.
- 60 Al igual que las cantidades y los tipos de excipientes, las cantidades y los tipos de principios activos específicos en una forma farmacéutica se pueden diferenciar dependiendo de factores tales como, pero no se limitan a, la vía por la que se va a administrar a los pacientes. En una realización, las formas de dosificación comprenden un compuesto descrito aquí en una cantidad de alrededor de 0,10 a alrededor de 500 mg. Por ejemplo, las formas de dosificación comprenden un compuesto descrito aquí en una cantidad de alrededor de 0,1, 1, 2, 5, 7,5, 10, 12,5, 15, 17,5, 20, 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, o 500 mg.
- 65 Por ejemplo, las formas de dosificación comprenden el segundo ingrediente activo en una cantidad de 1 a alrededor de 1000 mg, de alrededor de 5 a alrededor de 500 mg, de alrededor de 10 a alrededor de 350 mg, o de alrededor de 50 a

alrededor de 200 mg. Por supuesto, la cantidad específica del segundo agente activo dependerá del agente específico usado, las enfermedades o trastornos que se tratan o gestionan, y la o las cantidades de un compuesto descrito aquí, y cualesquiera agentes activos adicionales opcionales administrados simultáneamente al paciente.

5 5.5.1 Formas de dosificación oral

Las composiciones farmacéuticas que son adecuadas para la administración oral se pueden proporcionar como formas de dosificación discretas, tales como, pero sin limitarse a, comprimidos (por ejemplo, comprimidos masticables), comprimidos oblongos, cápsulas, y líquidos (por ejemplo, jarabes aromatizados). Dichas formas farmacéuticas contienen cantidades predeterminadas de principios activos y se pueden preparar por métodos de la farmacia bien conocidos para los expertos en la técnica. Véase en general, Remington's Pharmaceutical Sciences, 20^a ed., Mack Publishing, Easton PA (2000).

Las formas de dosificación oral descritas aquí se preparan combinando los ingredientes activos en una mezcla íntima con al menos un excipiente según técnicas de composición farmacéutica convencionales. Los excipientes pueden adoptar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Por ejemplo, excipientes adecuados para su uso en las formas farmacéuticas líquidas orales o en aerosol incluyen, pero no se limitan a, agua, glicoles, aceites, alcoholes, aromatizantes, conservantes y colorantes. Ejemplos de excipientes adecuados para uso en formas de dosificación oral sólidas (por ejemplo, polvos, comprimidos, cápsulas, y comprimidos oblongos) incluyen, pero no se limitan a, almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes granulantes, lubricantes, aglutinantes, y agentes disgregantes.

Por ejemplo, las formas de dosificación oral son comprimidos o cápsulas, en cuyo caso se emplean excipientes sólidos. Por ejemplo, los comprimidos pueden revestirse mediante técnicas acuosas o no acuosas estándar. Dichas formas farmacéuticas se pueden preparar por cualquiera de los métodos de la farmacia. En general, las composiciones farmacéuticas y las formas farmacéuticas se preparan mezclando uniforme e íntimamente los principios activos con vehículos líquidos, vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y luego moldeando el producto en la presentación deseada, si fuera necesario.

Por ejemplo, se puede preparar un comprimido por compresión o moldeo. Los comprimidos por compresión se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada los principios activos en una forma fluida tal como polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con un excipiente. Los comprimidos moldeados se pueden preparar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto humedecido en polvo con un diluyente líquido inerte.

Los ejemplos de excipientes que se pueden usar en las formas de dosificación oral descritas aquí incluyen, pero no se limitan a, aglutinantes, cargas, disgregantes, y lubricantes. Los aglutinantes adecuados para uso en composiciones farmacéuticas y formas de dosificación incluyen, pero no se limitan a, almidón de maíz, almidón de patata, u otros almidones, gelatina, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábiga, alginato de sodio, ácido algínico, otros alginatos, tragacanto en polvo, goma guar, celulosa y sus derivados (por ejemplo, etilcelulosa, acetato de celulosa, carboximetilcelulosa cálcica, carboximetilcelulosa sódica), polivinilpirrolidona, metilcelulosa, almidón pregelatinizado, hidroxipropilmelcelulosa (por ejemplo, Nos. 2208, 2906, 2910), celulosa microcristalina, y mezclas de los mismos.

Formas adecuadas de celulosa microcristalina incluyen, pero no se limitan a, los materiales comercializados como AVICEL-PH-101, AVICEL-PH-103 AVICEL RC-581, AVICEL-PH-105 (disponible de FMC Corporation, American Viscose Division, Avicel Sales, Marcus Hook, PA) y mezclas de los mismos. Un aglutinante específico es una mezcla de celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa de sodio comercializada como AVICEL RC-581. Excipientes o aditivos anhidros o de baja humedad adecuados incluyen AVICEL-PH-103™ y Starch 1500 LM.

Ejemplos de cargas adecuadas para uso en las composiciones farmacéuticas y formas de dosificación descritas aquí incluyen, pero no se limitan a, talco, carbonato de calcio (por ejemplo, gránulos o polvo), celulosa microcristalina, celulosa en polvo, dextratos, caolín, manitol, ácido silícico, sorbitol, almidón, almidón pregelatinizado, y mezclas de los mismos. El aglutinante o carga en las composiciones farmacéuticas está presente, por ejemplo, en alrededor de 50 a alrededor de 99 por ciento en peso de la composición farmacéutica o forma de dosificación.

Se pueden usar disgregantes en las composiciones, para proporcionar comprimidos que se disgregan cuando se exponen a un entorno acuoso. Los comprimidos que contienen demasiado disgregante se pueden disgregar en el almacenamiento, mientras que los que contienen demasiado poco pueden no disgregarse a una tasa deseada o en las condiciones deseadas. Por lo tanto, se puede usar una cantidad suficiente de disgregante que no sea ni demasiado grande ni demasiado pequeña para alterar perjudicialmente la liberación de los ingredientes activos para formar formas de dosificación oral sólidas. La cantidad de disgregante usada varía basándose en el tipo de formulación y es fácilmente distinguible para los expertos habituales en la técnica. Por ejemplo, las composiciones farmacéuticas comprenden de alrededor de 0,5 a alrededor de 15 por ciento en peso de disgregante, o de alrededor de 1 a alrededor de 5 por ciento en peso de disgregante.

Los disgregantes que se pueden usar en composiciones farmacéuticas y formas de dosificación incluyen, pero no se limitan a, agar-agar, ácido algínico, carbonato cálcico, celulosa microcristalina, croscarmelosa sódica, crospovidona,

polacrilina potásica, glicolato de almidón sódico, almidón de patata o tapioca, otros almidones, almidones pregelatinizados, otros almidones, arcillas, otras alginas, otras celulosas, gomas, y mezclas de los mismos.

- 5 Los lubricantes que se pueden usar en composiciones farmacéuticas y formas de dosificación incluyen, pero no se limitan a, estearato de calcio, estearato de magnesio, aceite mineral, aceite mineral ligero, glicerina, sorbitol, manitol, polietilenglicol, otros glicoles, ácido esteárico, laurilsulfato de sodio, talco, aceite vegetal hidrogenado (por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz, y aceite de soja), estearato de zinc, oleato de etilo, laurato de etilo, agar, y mezclas de los mismos. Lubricantes adicionales incluyen, por ejemplo, un gel de sílice siloide (AEROSIL200, fabricado por W.R. Grace Co. de Baltimore, MD), un aerosol coagulado de sílice sintética (comercializado por Degussa Co. de Plano, TX), CAB-O-SIL (un producto de dióxido de silicio pirógeno vendido por Cabot Co. de Boston, MA), y mezclas de los mismos. Si se usan, los lubricantes se pueden usar en una cantidad de menos de alrededor de 1 por ciento en peso de las composiciones farmacéuticas o formas de dosificación en las que se incorporan.
- 10 15 Por ejemplo, una forma de dosificación oral sólida comprende un compuesto descrito aquí, lactosa anhidra, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, ácido esteárico, sílice coloidal anhidra, y gelatina.

5.5.2 Formas de dosificación de liberación controlada

- 20 Los ingredientes activos tales como los compuestos descritos aquí se pueden administrar mediante medios de liberación controlada o mediante dispositivos de administración que son bien conocidos por los expertos en la técnica. Algunos ejemplos incluyen, pero no se limitan a, los descritos en las Patentes de EE. UU. N.ºs: 3.845.770; 3.916.899; 3.536.809; 3.598.123; y 4.008.719; 5.674.533; 5.059.595; 5.591.767; 5.120.548; 5.073.543; 5.639.476; 5.354.556; 5.639.480; 5.733.566; 5.739.108; 5.891.474; 5.922.356; 5.972.891; 5.980.945; 5.993.855; 6.045.830; 6.087.324; 6.113.943; 25 6.197.350; 6.248.363; 6.264.970; 6.267.981; 6.376.461; 6.419.961; 6.589.548; 6.613.358; 6.699.500. Tales formas de dosificación se pueden usar para proporcionar una liberación lenta o controlada de uno o más ingredientes activos usando, por ejemplo, hidropropilmetylcelulosa, otras matrices poliméricas, geles, membranas permeables, sistemas osmóticos, revestimientos de múltiples capas, micropartículas, liposomas, microesferas, o una combinación de los mismos, para proporcionar el perfil de liberación deseado en proporciones variables. Las formulaciones de liberación controlada adecuadas conocidas por los expertos en la técnica, incluidas las descritas aquí, se pueden seleccionar fácilmente para uso con los ingredientes activos descritos aquí. Por lo tanto, las composiciones descritas abarcan formas de dosificación unitaria única adecuadas para administración oral, tales como, pero sin limitarse a, comprimidos, cápsulas, cápsulas de gel, y comprimidos oblongos, que están adaptados para una liberación controlada.
- 30 35 Todos los productos farmacéuticos de liberación controlada tienen el objetivo común de mejorar la terapia farmacológica con respecto a la lograda por sus homólogos no controlados. Idealmente, el uso de una preparación de liberación controlada diseñada de manera óptima en el tratamiento médico se caracteriza por el empleo de un mínimo de sustancia farmacológica para curar o controlar la afección en un período de tiempo mínimo. Las ventajas de las formulaciones de liberación controlada incluyen una actividad prolongada del fármaco, una frecuencia de dosificación reducida, y un mayor cumplimiento por parte del sujeto. Además, se pueden usar formulaciones de liberación controlada para afectar el tiempo de inicio de la acción u otras características, tales como los niveles sanguíneos del fármaco, y por lo tanto pueden afectar la aparición de efectos secundarios (por ejemplo, adversos).

- 40 45 La mayoría de las formulaciones de liberación controlada están diseñadas para liberar inicialmente una cantidad de fármaco (ingrediente activo) que produce rápidamente el efecto terapéutico deseado, y liberar gradual y continuamente otras cantidades de fármaco para mantener este nivel de efecto terapéutico o profiláctico durante un período de tiempo prolongado. Con el fin de mantener este nivel constante de fármaco en el cuerpo, el fármaco debe liberarse a partir de la forma farmacéutica con una velocidad que reemplace a la cantidad de fármaco que se esté metabolizando y excretando del cuerpo. La liberación controlada de un ingrediente activo puede estimularse mediante diversas condiciones, que 50 incluyen, pero no se limitan a, pH, temperatura, enzimas, agua, u otras condiciones o compuestos fisiológicos.

- 55 60 En ciertas realizaciones, el fármaco se puede administrar mediante infusión intravenosa, una bomba osmótica implantable, un parche transdérmico, liposomas, u otros modos de administración. En una realización, se puede usar una bomba (véase Sefton, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201 (1987); Buchwald et al., Surgery 88:507 (1980); Saudek et al., N. Engl. J. Med. 321:574 (1989)). En otra realización, se pueden usar materiales poliméricos. En aún otra realización, se puede colocar un sistema de liberación controlada en un sujeto en un sitio apropiado determinado por un profesional experto, es decir, requiriendo así sólo una fracción de la dosis sistémica (véase, por ejemplo, Goodson, Medical Applications of Controlled Release, Vol. 2, págs. 115-138 (1984)). Otros sistemas de liberación controlada se analizan en la revisión de Langer (Science 249:1527-1533 (1990)). El ingrediente activo se puede dispersar en una matriz interna sólida, por ejemplo polimetacrilato de metilo, polimetacrilato de butilo, policloruro de vinilo plastificado o no plastificado, nailon plastificado, politereftalato de etileno plastificado, caucho natural, polisopreno, polisobutileno, polibutadieno, polietileno, copolímeros de etileno-acetato de vinilo, cauchos de silicona, polidimetilsiloxanos, copolímeros de carbonato de silicona, polímeros hidrófilos tales como hidrogeles de ésteres de ácido acrílico y metacrílico, colágeno, polialcohol vinílico reticulado y poliacetato de vinilo parcialmente hidrolizado reticulado, que está rodeado por una membrana polimérica externa, por ejemplo polietileno, polipropileno, copolímeros de etileno/propileno, copolímeros de etileno/acrilato de etilo, copolímeros de etileno/acetato de vinilo, cauchos de silicona, polidimetilsiloxanos, caucho de neopreno, polietileno clorado, policloruro 65

de vinilo, copolímeros de cloruro de vinilo con acetato de vinilo, cloruro de vinilideno, etileno y propileno, politereftalato de etileno ionómero, caucho de butilo, cauchos de epiclorhidrina, copolímero de etileno /alcohol vinílico, terpolímero de etileno/acetato de vinilo/alcohol vinílico, y copolímero de etileno/viniloxietanol, que es insoluble en fluidos corporales. A continuación, el principio activo se difunde a través de la membrana polimérica externa en un paso que controla la velocidad de liberación. El porcentaje de ingrediente activo en dichas composiciones parenterales depende en gran medida de su naturaleza específica, así como de las necesidades del sujeto.

5

5.5.3 Formas de dosificación parenteral

10 Las formas de dosificación parenteral se pueden administrar a pacientes por diversas vías, que incluyen, pero no se limitan a, subcutánea, intravenosa (incluida la inyección de bolo), intramuscular, e intraarterial. En algunas realizaciones, la administración de una dosificación parenteral evita las defensas naturales de los pacientes contra los contaminantes, y por lo tanto, en estas realizaciones, las formas de dosificación parenteral son estériles o pueden esterilizarse antes de la administración a un paciente. Los ejemplos de formas de dosificación parenteral incluyen, pero no se limitan a, disoluciones listas para inyección, productos secos listos para disolverse o suspenderse en un vehículo farmacéuticamente aceptable para inyección, suspensiones listas para inyección, y emulsiones.

15

20 Los expertos en la técnica conocen bien los vehículos adecuados que pueden usarse para proporcionar formas de dosificación parenteral. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a: Agua para inyección USP; vehículos acuosos tales como, pero sin limitarse a, inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección de dextrosa, inyección de dextrosa y cloruro de sodio, e inyección de Ringer lactada; vehículos miscibles en agua tales como, pero sin limitarse a, alcohol etílico, polietilenglicol, y polipropilenglicol; y vehículos no acuosos tales como, pero sin limitarse a, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, oleato de etilo, miristato de isopropilo, y benzoato de bencilo.

25

25 También se pueden incorporar a las formas de dosificación parenteral compuestos que aumentan la solubilidad de uno o más de los ingredientes activos descritos aquí. Por ejemplo, se pueden usar ciclodextrina y sus derivados, para aumentar la solubilidad de un compuesto proporcionado aquí. Véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. núm. 5.134.127.

30

5.5.4 Formas de dosificación tópica y mucosal

Las formas de dosificación tópica y mucosal descritas aquí incluyen, pero no se limitan a, esprays, aerosoles, disoluciones, emulsiones, suspensiones, colirios u otras preparaciones oftálmicas, u otras formas conocidas por un experto en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 16^a, 18^a y 20^a eds., Mack Publishing, Easton PA (1980, 1990 y 2000); e Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 4^a ed., Lea & Febiger, Filadelfia (1985). Las formas de dosificación adecuadas para tratar tejidos mucosales dentro de la cavidad bucal se pueden formular como enjuagues bucales o geles orales.

35

40 Los excipientes adecuados (por ejemplo, vehículos y diluyentes) y otros materiales que pueden usarse para proporcionar formas de dosificación tópica y mucosal descritas aquí son bien conocidos por los expertos en las técnicas farmacéuticas, y dependen del tejido particular al que se aplicará una composición farmacéutica o forma de dosificación dada. Por ejemplo, los excipientes incluyen, pero no se limitan a, agua, acetona, etanol, etilenglicol, propilenglicol, butano-1,3-diol, miristato de isopropilo, palmitato de isopropilo, aceite mineral, y mezclas de los mismos, para formar disoluciones, emulsiones o geles, que no son tóxicos y son farmacéuticamente aceptables. También se pueden añadir hidratantes o humectantes a 45 composiciones farmacéuticas y formas de dosificación. Son bien conocidos en la técnica ejemplos de ingredientes adicionales. Véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 16^a, 18^a y 20^a eds., Mack Publishing, Easton PA (1980, 1990 y 2000).

45

50 El pH de una composición farmacéutica o forma de dosificación también se puede ajustar para mejorar la administración de uno o más ingredientes activos. Además, para mejorar la administración, se pueden ajustar la polaridad de un vehículo disolvente, su fuerza iónica, o su tonicidad. También se pueden añadir compuestos tales como estearatos a 55 composiciones farmacéuticas o formas de dosificación, para alterar la hidrofilia o lipofilia de uno o más ingredientes activos para mejorar la administración. Por ejemplo, los estearatos pueden servir como vehículo lipídico para la formulación, como agente emulsionante o tensioactivo, o como agente potenciador de la administración o de la penetración. Por ejemplo, se pueden usar solvatos, hidratos, profármacos, clatratos, o estereoisómeros de los ingredientes activos para ajustar aún más las propiedades de la composición resultante.

5.5.5 KITS

60

En una realización, los ingredientes activos descritos aquí no se administran a un paciente al mismo tiempo o por la misma vía de administración. También se describen aquí kits que pueden simplificar la administración de cantidades apropiadas de ingredientes activos.

65

Por ejemplo, un kit comprende una forma de dosificación de un compuesto descrito aquí. Los kits pueden comprender además ingredientes activos adicionales, tales como otros compuestos antiinflamatorios, inmunomoduladores o

inmunosupresores, o una combinación de los mismos. Los ejemplos de ingredientes activos adicionales incluyen, pero no se limitan a, los descritos aquí.

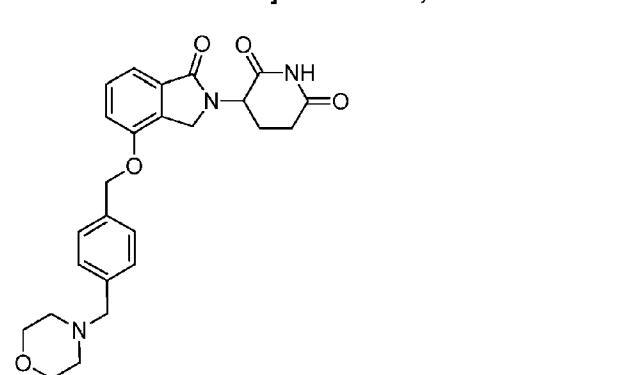
Por ejemplo, los kits pueden comprender además dispositivos que se usan para administrar los ingredientes activos. 5 Ejemplos de tales dispositivos incluyen, pero no se limitan a, jeringas, bolsas de goteo, parches, e inhaladores.

Los kits pueden comprender además células o sangre para trasplante, así como vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden usarse para administrar uno o más ingredientes activos. Por ejemplo, si un ingrediente activo se proporciona en una forma sólida que debe reconstituirse para administración parenteral, el kit puede comprender un recipiente sellado de un vehículo adecuado en el que el ingrediente activo puede disolverse para formar una disolución estéril libre de partículas que es adecuada para administración parenteral. Ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a: Agua para inyección USP; vehículos acuosos tales como, pero sin limitarse a, inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección de dextrosa, inyección de dextrosa y cloruro de sodio, e inyección de Ringer lactada; vehículos miscibles en agua tales como, pero sin limitarse a, alcohol etílico, polietilenglicol, y 10 polipropilenglicol; y vehículos no acuosos tales como, pero sin limitarse a, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, oleato de etilo, miristato de isopropilo, y benzoato de bencilo.

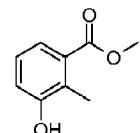
6. EJEMPLOS

20 Los siguientes Ejemplos se presentan a modo de ilustración, no de limitación. En los ejemplos, el compuesto de ensayo se refiere a (*S*)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetilbenciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindo-2-il]piperidin-2,6-diona.

6.1 EJEMPLO 1: PREPARACIÓN DE HIDROCLORURO DE (*S*)-3-[4-(4-MORFLIN-4-ILMETILBENCILOXI)-1-OXO-1,3-DIHIDRO-ISOINDO-2-IL]PIPERIDIN-2,6-DIONA

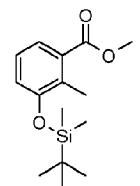


6.1.1 Éster metílico del ácido 3-hidroxi-2-metil-benzoico



Se añadió ácido 3-hidroxi-2-metilbenzoico (105 g, 690 mmol) a MeOH (800 ml) en un matraz de fondo redondo de tres bocas de 2 litros equipado con condensador, termómetro y barra agitadora, seguido de la adición de MeOH (250 ml). A la disolución anterior se añadió H₂SO₄ (10 ml, 180 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 62°C durante 17 horas. El disolvente se eliminó a vacío. El residuo (200 ml) se añadió lentamente a agua (600 ml) a temperatura ambiente, y se formó un sólido blanco. La suspensión se agitó en un baño de hielo durante 30 minutos y se filtró. El sólido se lavó con agua (5 x 250 ml), y se secó para dar éster metílico del ácido 3-hidroxi-2-metil-benzoico como un sólido blanco (100 g, rendimiento 87 %). El compuesto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional: LCMS MH = 167; ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 2,28 (s, 3H, CH₃), 3,80 (s, 3H, CH₃), 6,96 - 7,03 (m, 1H, Ar), 7,09 (t, J= 7,8 Hz, 1H, Ar), 7,14 - 7,24 (m, 1H, Ar), 9,71 (s, 1H, OH).

6.1.2 Éster metílico del ácido 3-(terc-butil-dimetil-silaniloxi)-2-metil-benzoico



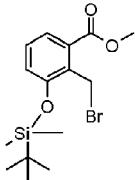
A un matraz de fondo redondo de tres bocas de 1 litro equipado con barra agitadora y termómetro, se añadieron DMF (300 ml), 3-hidroxi-2-metilbenzoato de metilo (90 g, 542 mmol) e imidazol (92 g, 1.354 mmol). A la disolución anterior se añadió TBDMS-Cl (90 g, 596 mmol) en porciones, para controlar la temperatura interna entre 15-19°C durante 20 minutos, y después de la adición, la temperatura interna cayó por debajo de 1°C. El baño de hielo se retiró, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se añadió a agua con hielo (500 ml), y la disolución resultante se dividió en dos porciones (700 ml x 2). Cada porción se extrajo con EtOAc (700 ml). Cada capa orgánica se lavó con agua fría (350 ml) y salmuera (350 ml). Las capas orgánicas se combinaron y secaron con MgSO₄. La capa orgánica combinada se concentró para dar éster metílico del ácido 3-(terc-butil-dimetil-silaniloxi)-2-metil-benzoico como un aceite de color marrón claro (160 g, rendimiento bruto 100 %). El compuesto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional: LCMS MH = 281; ¹H RMN (DMSO-d₆) δ -0,21 (s, 6H, CH₃, CH₃), 0,73 - 0,84 (m, 9H, CH₃, CH₃, CH₃), 2,10 (s, 3H, CH₃), 3,60 (s, 3H, CH₃), 6,82 (dd, 1H, Ar), 6,97 (t, J = 7,9 Hz, 1H, Ar), 7,13 (dd, J = 1,1, 7,7 Hz, 1H, Ar).

5

10

15

6.1.3 Éster metílico del ácido 2-bromometil-3-(terc-butil-dimetil-silaniloxi)-benzoico



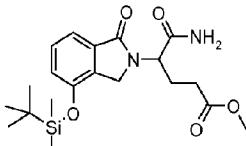
Se añadió NBS (49,8 g, 280 mmol) a 3-(terc-butil dimetilsiloxi)-2-metilbenzoato de metilo (78,4 g, 280 mmol) en acetato de metilo (500 ml) a temperatura ambiente para dar una suspensión de color naranja. La mezcla de reacción resultante se calentó en un baño de aceite a 40°C, y se iluminó con una bombilla de luz solar de 300 vatios a reflujo durante 4 horas.

La mezcla de reacción se enfrió, y se lavó con disolución de Na₂SO₃ (2 x 600 ml, concentración saturada al 50 %), agua (500 ml) y salmuera (600 ml). La capa orgánica se secó con MgSO₄, y se decoloró con carbón vegetal. La capa orgánica se concentró para dar éster metílico del ácido 2-bromometil-3-(terc-butildimetilsilaniloxi)-benzoico como un aceite de color marrón claro (96 g, rendimiento bruto 91 %). El compuesto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional: LCMS M-Br = 279; ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 0,05 - 0,11 (m, 6H, CH₃, CH₃), 0,82 (s, 9H, CH₃, CH₃, CH₃), 3,65 (s, 3H, CH₃), 4,74 (s, 2H, CH₂), 6,94 (dd, J = 1,3, 8,1 Hz, 1H, Ar), 7,10 - 7,20 (m, 1H, Ar), 7,21 - 7,29 (m, 1H, Ar).

20

25

6.1.4 Éster metílico del ácido 4-carbamoyl-butírico



30

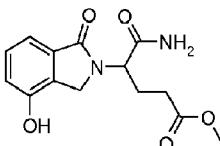
A una disolución agitada de 2-(bromometil)-3-(terc-butildimetsiloxi)benzoato de metilo (137,5 g, 325 mmol) en acetonitrilo (1100 ml) en un matraz de fondo redondo de 2 litros, se añadió hidrocloruro de 4,5-diamino-5-oxopentanoato de metilo (70,4 g, 358 mmol). A la suspensión se añadió DIPEA (119 ml, 683 mmol) a través de un embudo de adición durante 10 minutos, y la suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora antes de calentar la mezcla en un baño de aceite a 40°C durante 23 horas. La mezcla de reacción se concentró a vacío. El residuo se agitó en éter (600 ml), y precipitó un sólido blanco. La mezcla se filtró, y el sólido se lavó con éter (400 ml). El filtrado se lavó con HCl (1 N, 200 ml), NaHCO₃ (sat. 200 ml) y salmuera (250 ml). La capa ácida acuosa y la capa básica se mantuvieron separadas. Despues, el sólido se lavó adicionalmente con éter (250 ml), y el líquido se lavó con la disolución ácida y la disolución básica anteriores. Las dos capas orgánicas se combinaron y se concentraron a vacío para dar éster metílico del ácido 4-[4-(terc-butil-dimetil-silaniloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-4-carbamoyl-butírico como un aceite marrón (152 g, rendimiento bruto 115 %, pureza 77 % por RMN H). El compuesto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional: LCMS MH = 407.

35

40

45

6.1.5 Éster metílico del ácido 4-carbamoyl-4-(4-hidroxi-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il)-butírico



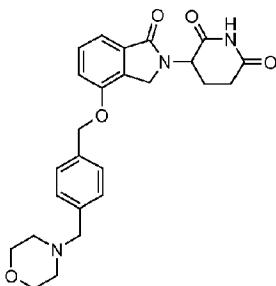
A una disolución fría agitada de 5-amino-4-(4-(terc-butildimetsiloxi)-1-oxoisindolin-2-il)-5-oxopentanoato de metilo (152 g, 288 mmol) en DMF (500 ml) y agua (55 ml), se añadió K₂CO₃ (19,89 g, 144 mmol) en porciones durante 5 minutos. La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 40 minutos. La mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo. A la mezcla se añadió lentamente HCl (12 M, 23,99 ml, 288 mmol). Despues de la adición, se añadió

5 acetonitrilo (280 ml) a la mezcla, y precipitó un sólido. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos, y se filtró. El sólido se lavó con acetonitrilo (50 ml x 4). El filtrado se concentró a alto vacío para dar un aceite amarillo (168 g). El aceite se disolvió en acetonitrilo (600 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. La mezcla se filtró, y el sólido se lavó con acetonitrilo (25 ml x 2). El filtrado se concentró a alto vacío para dar un aceite amarillo (169 g), que se añadió a una mezcla de agua (1200 ml) y éter (1000 ml). La mezcla se agitó durante 3 minutos, y las capas se separaron.

10 La disolución acuosa se concentró a alto vacío, y el residuo se agitó en acetonitrilo (160 ml), y se formó un sólido blanco después de agitar durante la noche. La mezcla se filtró para dar éster metílico del ácido 4-carbamoil-4-(4-hidroxi-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il)-butírico como un sólido blanco (46 g, rendimiento 54 %). El filtrado se concentró, y el residuo se cristalizó adicionalmente en acetonitrilo (60 ml) para dar más éster metílico del ácido 4-carbamoil-4-(4-hidroxi-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il)-butírico como un sólido blanco (11,7 g, rendimiento 14 %). El filtrado se concentró, y el residuo se purificó mediante cromatografía ISCO para dar más éster metílico del ácido 4-carbamoil-4-(4-hidroxi-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il)-butírico como un sólido blanco (13,2 g, rendimiento 15 %). El producto total obtenido fue 70,9 g, con un rendimiento del 83 %: LCMS MH = 293; ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 1,95 - 2,34 (m, 4H, CH₂, CH₂), 3,51 (s, 3H, CH₃), 4,32 (d, J = 17,6 Hz, 1H, CHH), 4,49 (d, J = 17,4 Hz, 1H, CHH), 4,73 (dd, J = 4,7, 10,2 Hz, 1H, CHH), 6,99 (dd, J = 0,8, 7,9 Hz, 1H, Ar), 7,10 - 7,23 (m, 2H, Ar, NHH), 7,25 - 7,38 (m, 1H, Ar), 7,58 (s, 1H, NHH), 10,04 (s, 1H, OH).

15

6.1.6 3-((4-(Morfolinometil)bencil)oxi)-1-oxoisooindolin-2-il)piperidin-2,6-diona



20

Etapa 1: A la disolución de 3-(4-hidroxi-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il)-piperidin-2,6-diona (2,5 g, 8,56 mmol) en THF (60 ml) se añadió trifenilfosfina (polímero soportado 1,6 mmol/g, 12 g, 18,8 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadió azodicarbonato de diisopropilo (3,96 ml, 18,8 mmol) a 0°C, y la mezcla se agitó a 0°C durante 30 minutos. Se añadió (4-morfolin-4-ilmetil-fenil)-metanol (2,62 g, 12,4 mmol) a 0°C, y la mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente, y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se concentró. El aceite resultante se purificó en una columna de gel de sílice eluida con cloruro de metileno y metanol (gradiente, el producto salió con 6% de metanol) para dar éster metílico del ácido 4-carbamoil-4-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-butírico (2,2 g, rendimiento 54 %). El producto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

30

Etapa 2: A la solución en THF (50 ml) de éster metílico del ácido 4-carbamoil-4-[4-(4-morfolin-4-ilmetil-benciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindol-2-il]-butírico (2,2 g, 4,57 mmol) se añadió terc-butóxido de potasio (0,51 g, 4,57 mmol) a 0°C. La mezcla se agitó a 0°C durante 10 minutos, y se paralizó con HCl 1 N (5 ml, 5 mmol), seguido de NaHCO₃ saturado (25 ml). La mezcla se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). La capa orgánica se lavó con agua (30 ml), con salmuera (30 ml), se secó sobre MgSO₄, y se concentró. Al sólido resultante se añadió EtOAc (10 ml), seguido de hexano (10 ml) con agitación. La suspensión se filtró para dar 3-((4-(4-(morfolinometil)bencil)oxi)-1-oxoisooindolin-2-il)piperidin-2,6-diona como sólido blanco (1,5 g, rendimiento 73 %). HPLC: Waters Symmetry C₁₈, 5μm, 3,9 × 150 mm, 1 ml/min, 240 nm, gradiente a 95/5 acetonitrilo/H₃PO₄ al 0,1 % en 5 min: t_R = 4,78 min (97,5 %); p.f.: 210-212 °C; ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 1,86 - 2,09 (m, 1H, CHH), 2,29 - 2,38 (m, 4H, CH₂, CH₂), 2,44 (dd, J = 4,3, 13,0 Hz, 1H, CHH), 2,53 - 2,64 (m, 1H, CHH), 2,82 - 2,99 (m, 1H, CHH), 3,46 (s, 2H, CH₂), 3,52 - 3,61 (m, 4H, CH₂, CH₂), 4,18 - 4,51 (m, 2H, CH₂), 5,11 (dd, J = 5,0, 13,3 Hz, 1H, NCH), 5,22 (s, 2H, CH₂), 7,27 - 7,38 (m, 5H, Ar), 7,40 - 7,53 (m, 3H, Ar), 10,98 (s, 1H, NH) ¹³C RMN (DMSO-d₆) δ 22,36, 31,21, 45,09, 51,58, 53,14, 62,10, 66,17, 69,41, 114,97, 115,23, 127,64, 128,99, 129,81, 129,95, 133,31, 135,29, 137,68, 153,50, 168,01, 170,98, 172,83; LCMS: 465; Anal Calculado para C₂₅H₂₇N₃O₅ + 0,86 H₂O: C, 64,58; H, 6,23; N, 9,04; Encontrado: C, 64,77; H, 6,24; N, 8,88.

45

(S)-3-((4-(morfolinometil)bencil)oxi)-1-oxoisooindolin-2-il)piperidin-2,6-diona y (R)-3-((4-(morfolinometil)bencil)oxi)-1-oxoisooindolin-2-il)piperidin-2,6-diona se prepararon a partir de 3-((4-(4-(morfolinometil)bencil)oxi)-1-oxoisooindolin-2-il)piperidin-2,6-diona mediante separación quiral.

50

6.2 EJEMPLO 2: ESTUDIOS CLÍNICOS - LES

6.2.1 Diseño del estudio

55 Se lleva a cabo un estudio de fase 2, aleatorizado, controlado con placebo, doblemente enmascarado, piloto, y multicéntrico, para evaluar la eficacia, seguridad, tolerabilidad, farmacocinética, farmacodinámica y farmacogenética preliminares del Compuesto 1 en sujetos con LES. Este estudio se lleva a cabo en dos partes.

Parte 1

5 La Parte 1 es un estudio de dosis ascendente, aleatorizado, doblemente enmascarado, controlado con placebo, para evaluar la seguridad y tolerabilidad del Compuesto 1A en sujetos con LES. La participación de los sujetos en la Parte 1 consistirá en 3 fases:

- 10 • Fase de selección previa al tratamiento: hasta 28 días antes de la primera dosis del producto en investigación (IP)
- Fase de tratamiento: hasta 84 días
 - Fase de observación: 84 días después del tratamiento

15 Un total de aproximadamente 40 sujetos serán asignados aleatoriamente a 4 grupos de dosis con una relación de 4:1 del Compuesto 1A (0,3 mg en días alternos [QOD], 0,3 mg todos los días [QD], 0,6 mg y 0,3 mg en días alternos y 0,6 mg QD) o placebo equivalente (8 sujetos en el brazo del IP y 2 sujetos en el brazo del placebo para cada grupo de dosis) usando un sistema interactivo de respuesta de voz (IVRS). Los sujetos serán asignados al azar a los dos primeros grupos de dosis de 0,3 mg QOD y 0,3 mg QD en paralelo. Tras la confirmación de la seguridad de los dos primeros grupos de dosis, los sujetos restantes se asignarán entonces al azar a los grupos de dosis de 0,6 mg y 0,3 mg en días alternos y de 0,6 mg QD de forma secuencial y ascendente (primero el grupo de dosis de 0,6 mg y 0,3 mg en días alternos, seguido del grupo de dosis de 0,6 mg QD). La fase de tratamiento tendrá una duración de hasta 84 días para todos los grupos de dosis. Los sujetos que interrumpan el IP prematuramente ingresarán a la fase de seguimiento observacional durante un período de 84 días. En todos los casos de Terminación Prematura del estudio, se alentará a los sujetos a completar una Visita de Terminación Prematura. En la FIG. 1 se muestra una representación gráfica del programa de administración de la dosificación de la Parte 1.

30 A todos los sujetos se les permitirá permanecer con dosis estables de hidroxicloroquina, cloroquina, y/o quinacrina durante el curso del estudio, siempre que los sujetos estén tomando uno de estos antipalúdicos durante ≥ 16 semanas antes de su visita inicial y mantengan una dosis estable durante al menos 4 semanas antes de la dosificación y durante todo el estudio. No se permitirán inmunosupresores sistémicos adicionales. Además, se permitirá el tratamiento a discreción (PRN) con antipruriginosos sistémicos y/o analgésicos sistémicos; sin embargo, los sujetos deben dejar de usar todos los antipruriginosos sistémicos 48 horas antes de todas las visitas del estudio, y los analgésicos sistémicos 12 horas antes de todas las visitas del estudio. Se pueden usar a discreción (PRN) medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) 35 orales, pero deben suspenderse 12 horas antes de todas las visitas del estudio. El uso de corticosteroides orales se permitirá únicamente en dosis de 10 mg o menos por día, y debe mantenerse en una dosis estable durante la participación en el estudio. No se permitirán corticosteroides intravenosos durante el estudio. No se permitirán otros tratamientos locales o sistémicos para las manifestaciones dermatológicas del lupus.

40 Una vez completados los primeros 28 días de la fase de tratamiento por al menos 8 sujetos en el Grupo de Dosis 1 (0,3 mg QOD) y el Grupo de Dosis 2 (0,3 QD), se llevará a cabo una evaluación de la seguridad y tolerabilidad. Si los Grupos de Dosis 1 y 2 se consideran seguros, los sujetos continuarán recibiendo la medicación del estudio durante hasta 84 días, y se iniciará la inscripción de sujetos en el Grupo de Dosis 3 (0,6 mg y 0,3 mg en días alternos). Una vez completados los 45 primeros 28 días de la fase de tratamiento por al menos 8 sujetos del Grupo de Dosis 3 (0,6 mg y 0,3 mg en días alternos), se llevará a cabo una evaluación de la seguridad y tolerabilidad. Si el Grupo de Dosis 3 se considera seguro, los sujetos continuarán recibiendo la medicación del estudio durante hasta 84 días, y se iniciará la inscripción de sujetos en el Grupo de Dosis 4 (0,6 mg QD). Una vez completados los primeros 28 días de la fase de tratamiento por al menos 8 sujetos del Grupo de Dosis 4 (0,6 mg QD), se llevará a cabo una evaluación de la seguridad y tolerabilidad. Si el Grupo de Dosis 4 se considera aceptable, los sujetos continuarán recibiendo la medicación del estudio durante hasta 84 días.

50 Los sujetos permanecerán con el tratamiento asignado durante hasta 84 días. En el caso de que un sujeto experimente eventos adversos (EA) relacionados con IP clínicamente significativos, se permitirá una interrupción de la dosis durante hasta 14 días. Si un sujeto no puede permanecer con la dosis asignada, reducirá su dosis al siguiente régimen de dosificación más bajo. Las reducciones de dosis se producirán de la siguiente manera:

- 55
- Los sujetos que toman 0,6 mg QD reducirán su dosis a 0,6 mg/0,3 mg en días alternos
 - Los sujetos que toman 0,6 mg/0,3 mg en días alternos reducirán su dosis a 0,3 mg QD
- 60
- Los sujetos que toman 0,3 mg QD reducirán su dosis a 0,3 mg QOD
 - Los sujetos que toman 0,3 mg QOD reducirán su dosis a placebo

65 A un sujeto sólo se le permitirá reducir su dosis una vez durante el estudio. La decisión de modificar la dosificación del IP se basará en el criterio clínico del investigador. Se debe notificar al patrocinador la intención de reducir la dosis antes de

realizar un cambio en la dosis. Los sujetos que abandonen el estudio antes de completar 28 días de tratamiento pueden ser reemplazados (hasta un total de 10 sujetos para la Parte 1) a discreción del patrocinador.

A los sujetos que participen en la Parte 1 del estudio no se les permitirá participar en la Parte 2 del estudio.

5

Parte 2

La Parte 2 es un estudio de grupos paralelos, doblemente enmascarado, aleatorizado, controlado con placebo, para evaluar la eficacia y seguridad del Compuesto 1A en sujetos con LES con predominio cutáneo. La Parte 2 sólo se iniciará 10 una vez que hasta 8 sujetos hayan completado 28 días de tratamiento en el grupo de dosis de 0,6 mg QD para la Parte 1 y se complete la evaluación de seguridad de 28 días del grupo de dosis de 0,6 mg QD en la Parte 1.

La participación de los sujetos en la Parte 2 consistirá en 3 fases:

15

- Fase de selección previa al tratamiento: hasta 28 días antes del comienzo del IP
- Fase de tratamiento: hasta 84 días
- Fase de observación: 84 días después del tratamiento

20

Se asignarán aleatoriamente hasta un total de aproximadamente 100 sujetos a 4 grupos de dosis del Compuesto 1A (0,3 mg QOD, 0,3 mg QD, 0,6 mg y 0,3 mg en días alternos y 0,6 mg QD) o placebo equivalente (20 sujetos en cada brazo de dosificación del Compuesto 1A y 20 sujetos en el brazo de placebo) usando un IVRS. Los grupos de dosis incluidos en la Parte 2 dependerán de los resultados de la Parte 1. Cualquier grupo de dosis que no demuestre seguridad, tolerabilidad 25 o PD adecuadas no podrá usarse en la Parte 2. La fase de tratamiento de la Parte 2 tendrá una duración de hasta 84 días. Los sujetos que interrumpan el IP prematuramente ingresarán a la fase de seguimiento observacional durante un período de 84 días. En todos los casos de terminación prematura del estudio, se alentará a los sujetos a completar una Visita de Terminación Prematura.

30

A todos los sujetos se les permitirá permanecer con dosis estables de hidroxicloroquina, cloroquina, y/o quinacrina durante el curso del estudio, siempre que los sujetos estén tomando uno de estos antipalúdicos durante ≥ 16 semanas antes de su visita inicial y mantengan una dosis estable durante al menos al menos 4 semanas antes de la dosificación y durante todo el estudio. No se permitirán inmunosupresores sistémicos adicionales. Además, se permitirá el tratamiento a 35 discreción con antipruriginosos sistémicos y/o analgésicos sistémicos. Sin embargo, los sujetos deben dejar de usar todos los antipruriginosos sistémicos 48 horas antes de todas las visitas del estudio, y los analgésicos sistémicos 12 horas antes de todas las visitas del estudio. Se pueden usar AINE orales a discreción, pero deben suspenderse 12 horas antes de todas las visitas del estudio. El uso de corticosteroides orales se permitirá únicamente en dosis de 10 mg o menos por día, y debe mantenerse en una dosis estable durante la participación en el estudio. No se permitirán corticosteroides intravenosos durante el estudio. No se permitirán otros tratamientos tópicos, locales o sistémicos para las manifestaciones 40 dermatológicas del LES.

40

Los sujetos permanecerán con el tratamiento asignado durante hasta 84 días. En el caso de que un sujeto experimente EA relacionados con IP clínicamente significativos, se permitirá una interrupción de la dosis durante hasta 14 días. Si un 45 sujeto no puede permanecer con la dosis asignada, reducirá su dosis al siguiente régimen de dosificación más bajo. Las reducciones de dosis se producirán de la siguiente manera:

- Los sujetos que toman 0,6 mg QD reducirán su dosis a 0,6 mg/0,3 mg en días alternos
- Los sujetos que toman 0,6 mg/0,3 mg en días alternos reducirán su dosis a 0,3 mg QD
- Los sujetos que toman 0,3 mg QD reducirán su dosis a 0,3 mg QOD
- Los sujetos que toman 0,3 mg QOD reducirán su dosis a placebo

50

A un sujeto sólo se le permitirá reducir su dosis una vez durante el estudio. La decisión de modificar la dosificación del IP se basará en el criterio clínico del investigador. Se debe notificar al patrocinador la intención de reducir la dosis antes de un cambio en la dosis.

55

Los sujetos que abandonen el estudio antes de completar 28 días de tratamiento pueden ser reemplazados (hasta un total de 10 sujetos en la Parte 2) a discreción del patrocinador.

Tanto para la Parte 1 como para la Parte 2, los sujetos tendrán visitas programadas periódicamente para evaluar la actividad y la seguridad del IP. Las evaluaciones requeridas se completarán como se muestra en las Tablas 1 y 2.

Tabla 1. Parte 1

	Fase de preparamiento	Fase de tratamiento							Fase de seguimiento observacional						
		1	2	Inicial	3	4	5	6	7-9	10	Visita de tratamiento final / Visita de terminación prematura	11	12	13	14
Visitas)	± 1 Día - Días 28 al 29														
± 2 Días - Días 43 al 169	Días -	Selección													
Días)															
Participación en el estudio	-28		1	8	15	22	29	43, 57, 71	85						
Autorización escrita	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Criterios de inclusión/exclusión	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Anamnesis	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Exámenes oftalmológicos	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Evaluaciones de seguridad															
Examen físico completo	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Examen físico concreto	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Constantes vitales	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Identificación de hepatitis B Y C	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematología sénica, bioquímica y análisis de orina	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
IgA, IgG e IgM	-	X	-	-	-	-	-	-	-	Día 57	X	X	-	-	-
Panel de inflamación	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Prueba de embarazo de β-HCG en suero ^a	X	X	-	-	-	-	-	-	-	Día 57	X	X	-	-	-
Prueba de embarazo con orina ^b	-	X	X	X	X	X	X	X	X	-	-	-	-	-	-
Título de toxoide tetánico, meningocócico/neumocócico y de gipe	-	X	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-
Administración de vacunas antitetánica, meningocócica, neumocócica y/o de la gipe	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Apófisis proteína, colesterol total y vitaminas liposolubles A, D, E, K, PT, INR y PTT	-	X	-	-	-	-	-	-	-	X	Día 57	X	-	X	-
	-	X	-	-	-	-	-	-	-	X	Día 43	X	-	X	X

Tabla 1.

Parte 1 (Continuación)

	Fase de pretratamiento			Fase de tratamiento			Visita de tratamiento final y visita de terminación prematura			Visita de tratamiento final y visita de terminación prematura			Fase de seguimiento observacional		
	Visitas(s) ±1 Día - Días 28 al 29 ±2 Días - Días 43 al 169	Selección	Inició	2	3	4	5	6	7-9	10	11	12	13	14	Día 169 12 semanas después del tratamiento
Días(s)	-28	1	8	15	22	29	43	57	71	85	Día 99 2 semanas después del tratamiento	Día 113 4 semanas después del tratamiento	Día 141 8 semanas después del tratamiento	Día 144 semanas después del tratamiento	
ECG de 12 derivaciones	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	-	-	-	
Eventos adversos	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Medicamentos y procedimientos concomitantes	Y	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Programa de asesoramiento para la prevención del embarazo de Oergene (CPPCP)	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	-	-	-	
Evaluaciones de eficacia															
Actividad según CLASI	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
Dato según CLASI	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	Día 57	X	-	-	
SELENA SLEDAl híbrido	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Día 57	X	-	-	
Recuento de articulaciones hinchadas y sensibles	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Día 57	X	-	-	
PGA	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Día 57	X	-	-	
Escala de dolor por pericarditis/pleurítico	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Día 57	X	-	-	
HAQ-DI	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Día 57	X	-	-	
SF-12	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	Día 57	X	-	-	
DQOL	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	-	X	-	
EQ-5D	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	-	-	X	
FACT-F	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	Día 57	X	-	-	
LupusPRO	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	Día 57	X	X	X	
Evaluaciones PNPO															
Extracción de sangre PK dispersa	-	-	X	-	X	-	X	-	X	Día 57	X	-	-	-	
Extracción de sangre PK intensiva	-	X	-	X	-	X	-	X	-	Día 57	X	-	-	-	

Tabla 1.

Parte 1 (Continuación)

	Fase de pretratamiento	Fase de tratamiento						Fase de seguimiento observacional						
		1	2	Iniciat	3	4	5	6	7-9	10	11	12	13	14
Visita(s) ± 1 Día - Días 28 al 29 ± 2 Días - Días 43 al 49	Selección									Vista de tratamiento final / Vista de terminación prematura				
Días(s)	-28	1	X	-	-	-	-	-	X	Día 57	85	X	Día 113	Día 141
Extracción de muestra de sangre periférica para los análisis de subconjuntos de linfocitos	-									43, 57, 71	2 semanas después del tratamiento	-	4 semanas después del tratamiento	8 semanas después del tratamiento
Citometría de flujo de biomarcadores de LES (atios andíkaros)	-	X	-	-	-	X	-	X	Día 57	X	-	-	-	-
Autoanticuerpo de lupus/Pantel complemento	de lupus	X	X	-	X	-	X	Día 57	X	X	-	-	-	-
Perfil de anti-fosfolípidos del lupus	-	X	-	-	-	-	-	-		X	-	-	-	-
Producto en investigación											X	X	X	X
Administrar IP	-	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	-	-	-
Comprobamiento con el IP	-	-	X	X	X	X	X	X	X	X	-	-	-	-

* Es necesario que las FCBP tengan dos pruebas de embarazo negativas (sensibilidad de al menos 25 mIU/ml) antes de comenzar la administración del IP. La primera prueba de embarazo debe realizarse dentro de los 10 a 14 días antes de comenzar la administración del IP, y la segunda prueba debe realizarse dentro de las 24 horas antes de comenzar la administración del IP. La mujer no debe recibir el IP hasta que el investigador haya verificado que los resultados de estas pruebas de embarazo son negativos. Las FCBP con ciclos menstruales normales o sin ellos deben hacerse una prueba de embarazo semanalmente durante las primeras 4 semanas de participación en el estudio, y después cada 28 días mientras continúen en el estudio. Si los ciclos menstruales son irregulares, la prueba de embarazo debe hacerse semanalmente durante los primeros 28 días, y después cada 14 días mientras continúen en el estudio.

** A todos los sujetos tanto masculinos como FCBP se les debe asesorar sobre las precauciones del embarazo y riesgos de exposición fetal. A todos los sujetos se les debe asesorar sobre el hecho de no compartir el producto en investigación y de no donar sangre durante y dentro de los 28 días de la interrupción del producto en investigación.

Tabla 2. Parte 2

Visita(s) +1 Día - Días 28 al 29 +2 Días - Días 43 al 169	Fase de preparamiento			Fase de tratamiento			Visita de tratamiento final / Visita de terminación prematura			Fase de seguimiento observacional		
	1 Selección	2 Inicial	3 4	5	6	7-9	10 Día 99 2 semanas después del tratamiento	11 Día 113 4 semanas después del tratamiento	12 Día 141 8 semanas después del tratamiento	13 Día 169 12 semanas después del tratamiento	14 Día 169 12 semanas después del tratamiento	
Días(s)	28	1	8	15	22	29	43, 57, 71	85				
Participación en el estudio												
Autorización escrita	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Criterios de inclusión/exclusión	X	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anamnesis	X	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-
Exámenes oftalmológicos	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Evaluaciones de seguridad												
Examen físico completo	X	-	-	-	-	-	-	X	-	X	-	X
Examen físico concreto	-	X	X	X	X	X	-	X	X	-	X	-
Constantes vitales	X	X	-	-	-	-	-	X	X	X	X	X
Identificación de hepatitis B y C	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hematología sérica, bioquímica y análisis de orina	X	X	-	X	X	X	-	X	X	-	X	X
IgA, IgG e IgM	-	X	-	-	-	-	-	X	X	-	-	-
Panel de inflamación	-	X	X	X	X	X	-	X	X	-	X	-
Prueba de embarazo de β-HCG en suero ^a	X	-	-	-	X	X	-	X	X	-	X	-
Prueba de embarazo con orina ^b	-	X	X	X	X	X	-	-	-	-	-	-
Prueba de toxoide tetánico, meningocócico/neumocócico y de gripe	-	X	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-
Administración de vacunas antitetánica, meningocócica, reumatóidea y/o de la gripe	-	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Apolipoproteínas, colesterol total y vitaminas liposolubles A, D, E y K	-	X	-	-	-	-	X	X	-	X	-	-
PT, INR y PTT	-	X	-	-	-	-	-	X	X	-	X	X
ECG de 12 derivaciones	X	X	X	-	-	-	-	X	X	-	-	-
Eventos adversos	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Medicamentos y procedimientos concomitantes	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Tabla 2. Parte 2 (Continuación)

	Fase de pretratamiento						Fase de tratamiento						Fase de seguimiento observacional					
	Visita(s) +1 Día - Días 28 al 29 +2 Días - Días 3 al 138	1. Selección	2. Inicial	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	Vista de tratamiento final / Visita de terminación prematura	11.	12.	13.	14.		
Días:	-28	-1	1	8	15	22	29	43	57	71	85	2 semanas, 4 semanas después del tratamiento	Día 88	Día 113	Día 141	Día 144	Día 145	
Programa de asesoramiento para la prevención del embarazo de Cesárea (CPPCP)	X	X	-	X	-	X	X	X	X	X	X	-	-	-	-	-	-	
Evaluaciones de eficacia:																		
Achividad según CLASI	X	X	X	X	-	X	-	X	X	X	X	Día 57	X	X	X	X	X	X
Dolor según CLASI	-	X	X	X	-	X	-	X	-	X	X	Día 57	X	X	X	X	X	X
SELENA-SIERRA hídrido PGA	-	X	X	X	X	-	X	-	X	X	X	Día 57	X	X	X	X	X	X
Recuento de articulaciones hinchadas y sensibles	-	X	X	X	X	-	X	-	X	X	X	Día 57	X	X	X	X	X	X
Escala de dolor por perinealгиальный	por	X	X	X	X	-	X	-	X	X	X	Día 57	X	X	X	X	X	X
HAG-EI	-	X	X	X	X	-	X	-	X	X	X	Día 57	X	X	X	X	X	X
SF-12	-	X	X	X	X	-	X	-	X	X	X	Día 57	X	X	X	X	X	X
DQL	-	X	X	X	X	-	X	-	X	X	X	-	X	X	X	X	X	X
ED-SD	-	X	X	X	X	-	X	-	X	X	X	Día 57	X	X	X	X	X	X
FACT1-F	-	X	X	X	X	-	X	-	X	X	X	Día 57	X	X	X	X	X	X
Liposuero	-	X	X	X	X	-	X	-	X	X	X	Día 57	X	X	X	X	X	X
Evaluaciones PK/PD																		
Extracción de sangre PK dispensaria	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	X	Día 57	X	X	X	X	X	X
Extracción de sangre PK clínica	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	X	Día 57	X	X	X	X	X	X
Extracción de muestra de sangre periférica para los análisis de subconjuntos de linfocitos	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	Día 57	X	X	X	X	X	X
Chromatografía de flujo de biomarcadores de LES (elios and ikaros)	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
Autoanticuerpo de fijación Panel del complemento	X	X	X	X	-	X	-	X	-	X	-	Día 57	X	X	X	X	X	X
Perfil de antifosfolípidos del lupus	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-
Extracción de sangre farmacogenética	-	X	-	X	-	X	-	X	-	X	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 2. Parte 2 (Continuación)

Visita(s) ± 1 Día - Días 28 al 29 ± 2 Días - Días 43 al 169	Fase de pretratamiento						Fase de tratamiento						Fase de seguimiento observación					
	Selección	1	2	3	4	5	6	7-8	10	Vista de tratamiento final / Vista de terminación prematura	11	12	13	14	Día 189			
									Día 98	Día 113 2 semanas 4 semanas después del tratamiento	Día 141 6 semanas después del tratamiento	Día 141 12 semanas después del tratamiento						
Día(s)	-26	1	8	15	22	29	43, 57, 71	85										
Administración IP	-	X	-	X	-	X	-	X										
Compliance con el IP	-	-	X	X	X	X	X	X										

• Es necesario que las FCBP tengan dos pruebas de embarazo negativas (sensibilidad de al menos 25 mIU/ml) antes de comenzar la administración del IP. La primera prueba de embarazo debe realizarse dentro de los 10 a 14 días antes de comenzar la administración del IP, y la segunda prueba debe realizarse dentro de las 24 horas antes de comenzar la administración del IP. La mujer no debe recibir el IP hasta que el investigador haya verificado que los resultados de estas pruebas de embarazo son negativas. Las FCBP con ciclos menstruales normales o sin ellos deben hacerse una prueba de embarazo semanalmente durante las primeras 4 semanas de participación en el estudio, y después cada 28 días mientras continúen en el estudio. Y en el día 28 tras interrumpir el estudio, al interrumpir el estudio, al interrumpir el estudio, al interrumpir el estudio.

• A todos los sujetos tanto masculinos como FCBP se les debe asesorar sobre las precauciones del embalaje y riesgos de exposición fetal. A todos los sujetos se les debe asesorar sobre el efecto de no compartir el producto en investigación y de no donar sangre durante y dentro de los 28 días de la interrupción del producto en investigación.

Al finalizar o abandonar la Fase de tratamiento para la Parte 1 o la Parte 2, todos los sujetos (incluyendo los abandonos prematuros) serán seguidos quincenalmente durante los primeros 28 días y luego mensualmente durante los 56 días restantes en una Fase de seguimiento observacional de 28 días. Este estudio se llevará a cabo de conformidad con el protocolo, las buenas prácticas clínicas (BPC) y los requisitos reglamentarios aplicables.

5

6.2.2. Población de estudio

La población de estudio está formada por hombres y mujeres de 18 años o más al momento de firmar la autorización por escrito (ICD) tanto para la Parte 1 como para la Parte 2.

10

Los sujetos de la Parte 1 deben tener un diagnóstico establecido de LES según lo definido por la Actualización de 1997 de los Criterios Revisados de 1982 del Colegio Americano de Reumatología (ACR) para la clasificación de LES en la Selección.

15

Los sujetos en la Parte 2 deben tener:

- Un diagnóstico establecido de LES según lo definido por la Actualización de 1997 de los Criterios Revisados del ACR de 1982 para la Clasificación de LES en la Selección
- 20 • Un diagnóstico clínico de LES con manifestaciones dermatológicas de enfermedad de lupus durante al menos 16 semanas antes de la selección, y hallazgos consistentes en la biopsia de piel según la clasificación de Gilliam
- 25 • Lesiones cutáneas activas de gravedad suficiente, según el índice de gravedad y área del lupus cutáneo (CLASI) (puntuación de actividad CLASI ≥ 10) al inicio
- Artritis activa por LES definida como al menos 3 articulaciones sensibles al inicio
- 30 • Anticuerpos positivos asociados con LES, que deben incluir uno de los siguientes:
 - Anticuerpos antinucleares (ANA) definidos como un título de 1:160 o mayor mediante ensayo de inmunofluorescencia (IFA) dentro del período de selección
 - Anticuerpos de ADN-bc positivos definidos como ≥ 30 UI dentro del período de selección
 - 35 ◦ Anticuerpos antinucleares (SS-A [Ro], SS-B[La], Smith o RNP) dentro del período de selección

6.2.3 Duración del estudio

40

La duración de la participación en el estudio para cada sujeto es de 196 días (hasta una Fase de selección de 28 días, una Fase de tratamiento de 84 días, y una Fase de seguimiento observacional de 84 días) para los participantes tanto de la Parte 1 como de la Parte 2.

45

El Fin del Ensayo se define como la fecha de la última visita del último sujeto para completar el estudio, o la fecha de recepción del último punto de datos del último sujeto que se requiere para los análisis primarios, secundarios y/o exploratorios, según lo especificado previamente en el protocolo y/o el Plan de Análisis Estadístico, cualquiera que sea la fecha más tardía.

6.2.4. Tratamiento del estudio

50

El Compuesto 1A se proporcionará en cápsulas de 0,3 mg. También se proporcionarán cápsulas de placebo estándar compatibles. Las cápsulas se tomarán por vía oral (VO), con o sin alimentos.

55

Los sujetos serán asignados al azar a uno de los 4 grupos de dosis siguientes para la Parte 1. Si los cuatro grupos de dosis demuestran suficiente seguridad, tolerabilidad y/o eficacia durante la Parte 1, se usarán los mismos cuatro grupos de dosis para la Parte 2. El producto en investigación se administrará por vía oral (VO) como se describe a continuación:

Compuesto 1A

60

- 0,3 mg QOD

Los sujetos recibirán 0,3 mg una vez cada dos días

65

- 0,3 mg QD

Los sujetos recibirán 0,3 mg todos los días

- 0,6 mg y 0,3 mg en días alternos

5 Los sujetos recibirán 0,6 mg y 0,3 mg en días alternos.

- 0,6 mg QD

10 Los sujetos recibirán 0,6 mg todos los días

Placebo

Los sujetos asignados al grupo de placebo recibirán diariamente cápsula o cápsulas de placebo equivalentes. En el caso de que un sujeto que toma placebo experimente EA clínicamente significativos relacionados con el IP, se permitirá una interrupción de la dosis durante hasta 14 días. Si un sujeto no puede continuar con su placebo, el sujeto puede suspender el IP prematuramente y entrar en una fase de seguimiento observacional de 84 días para la Parte 1 o una fase de seguimiento de 28 días para la Parte 2. En todos los casos de terminación prematura del estudio, se alentará a los sujetos a completar una Visita de Terminación Prematura. La decisión de modificar la dosificación del IP se basará en el criterio clínico del investigador. Se debe notificar al patrocinador la intención de reducir la dosis antes de un cambio en la dosis.

20 En caso de que un sujeto experimente un brote durante el período de seguimiento observacional, el IP puede tratar al sujeto con el estándar de atención para permitirle permanecer en el estudio y continuar con las visitas y evaluaciones programadas indicadas por el programa de evaluaciones.

6.2.5 Resumen de las evaluaciones de seguridad

25 La seguridad se evalúa según los siguientes criterios:

- Eventos adversos
- 30 • Signos vitales, incluyendo altura, peso, pulso, temperatura y tensión arterial
- Hematología, química sérica, análisis de orina
- Panel de inflamación
- 35 • Pruebas de embarazo de beta-gonadotropina coriónica humana (HCG) en suero y de orina (para mujeres en edad fértil [FCBP])
- Títulos de vacunas contra toxoide tetánico, meningococo, neumococo y gripe
- 40 • Electrocardiogramas (ECG) centralizados de 12 derivaciones
- Exámenes físicos, incluyendo altura y peso
- 45 • Medicamentos y procedimientos concomitantes
- Exámenes oftalmológicos
- Detección de hepatitis

6.2.6 Resumen de las evaluaciones farmacocinéticas

Se tomarán muestras de sangre para la cuantificación del Compuesto 1A en plasma en puntos de tiempo específicos (Tablas 1 y 2) durante el curso del estudio. Se seleccionará un mínimo de 4 sujetos en cada uno de los 4 grupos de tratamiento en la Parte 1 y la Parte 2 (un total mínimo de 32 sujetos) para participar en la parte PK intensiva del estudio. El IVRS se usará para garantizar la inclusión de un mínimo de 4 participantes de PK intensiva por grupo de dosis. Los parámetros farmacocinéticos PK no compartimentales del compuesto 1A se estimarán a partir de estos sujetos. A todos los demás sujetos que no participen en la parte de PK intensiva del estudio se les extraerán muestras de PK dispersas.

6.2.7 Resumen de las evaluaciones farmacodinámicas

El perfil farmacodinámico se evalúa según lo siguiente:

- Los marcadores PD aiolos e ikaros se medirán en glóbulos blancos periféricos en las Partes 1 y 2

- Los subconjuntos de linfocitos de sangre periférica se medirán en la Parte 1 y la Parte 2
- Anticuerpos de lupus/Panel del complemento (anti-Ro, anti-La, anti-ADNbc, anti-smith, factor reumatoide, anti-RNP, C3, C4, productos activados del complemento unidos a células (CB-CAP), CH50, ANA, ANCA, anticuerpos antitiroideos) en la Parte 1 y Parte 2

5

6.2.8 Resumen de las evaluaciones de eficacia

La eficacia se evalúa en función de lo siguiente:

10

- Índice de gravedad y área del lupus cutáneo (CLASI)
- Índice de actividad de la enfermedad del lupus eritematoso sistémico SELENA híbrido (SLEDAI)
- Evaluación global del médico (PGA)
- Recuentos de articulaciones hinchadas y sensibles
- Escala de calificación numérica del dolor pericárdico/pleurítico

15

6.2.9 Resumen de las evaluaciones de calidad de vida

La calidad de vida general se evalúa según lo siguiente:

25

- Evaluación funcional de la terapia de enfermedades crónicas - fatiga (FACIT-F)
- Formulario corto - 12 (SF-12)
- EQ-5D
- Índice de calidad de vida en dermatología (DLQI)
- Índice de discapacidad del Cuestionario de Evaluación de la Salud (HAQ-DI)
- Herramienta de resultados informados por pacientes con lupus (LupusPRO)

30

6.2.10 Resumen de las evaluaciones farmacogenéticas

El perfil farmacogenético se puede evaluar usando polimorfismos de un solo nucleótido en genes asociados con LES, tales como, pero sin limitarse a, IKZF1 e IKZF3.

40

6.2.11 Procedimientos

A. Entrada al estudio

45

Las evaluaciones requeridas se completarán como se muestra en las Tablas 1 y 2.

50

- El investigador principal o persona designada debe obtener la autorización escrita de todos los sujetos antes del inicio de cualesquiera procedimientos del estudio. Todos los sujetos deben revisar la parte del subestudio de la autorización escrita (PK intensiva, inmunización y PG) antes del inicio de cualesquiera procedimientos del estudio, e indicar si dan su consentimiento o no para participar en esta parte del estudio.

55

- Para cada sujeto, se recopilará la información relevante de los antecedentes médicos (incluyendo síntomas gastrointestinales relevantes, síntomas neurológicos, consumo de alcohol y tabaco, etc.).

60

- Para cada sujeto se recopilará la información sobre el uso de medicamentos previos/concomitantes. En las visitas de selección y de referencia, los medicamentos concomitantes deben compararse con la lista de medicamentos prohibidos, para garantizar que se hayan cumplido los tiempos de aclaramiento requeridos. Si un sujeto no cumple con los requisitos de aclaramiento de la medicación, se debe reprogramar la visita del estudio.

B. Evaluación de seguridad

En los días de las visitas del estudio, los sujetos tomarán su dosis del IP en el sitio.

Las evaluaciones requeridas se completarán como se muestra en las Tablas 1 y 2. Las evaluaciones se pueden realizar en otros momentos durante el estudio si el investigador las considera clínicamente justificadas.

- Se recopilará la información sobre todos los EA, independientemente de la relación causal con el IP (Compuesto 1A o placebo), que ocurran en cualquier momento durante todo el estudio, desde el momento de la firma de la autorización escrita hasta la Fase de observación inclusive.
 - Los signos vitales incluyen temperatura, pulso y tensión arterial en posición sentada. La tensión arterial se medirá después de que el sujeto haya estado sentado y descansando tranquilamente durante 5 minutos.
- 10 En las visitas del estudio en las que se realizan ECG y evaluaciones farmacocinéticas PK, primero se deben completar las medidas de la tensión arterial. Después se deben realizar ECG previos a la dosis, seguido de extracciones de sangre farmacocinéticas PK previas a la dosis, y dosificación del IP.
- 15 • Los exámenes físicos completos incluirán evaluaciones de la altura (visita de selección) y peso (visita de selección y de tratamiento final - que se realizarán con ropa de calle, sin zapatos), piel, cavidades nasales, ojos, oídos, sistema respiratorio, cardiovascular, gastrointestinal, neurológico, linfático, y musculoesquelético. Los resultados de los exámenes físicos se registrarán únicamente en los documentos originales. Los hallazgos anormales clínicamente significativos identificados durante el examen físico de selección se registrarán en el e-CRF como antecedentes médicos; los hallazgos clínicamente significativos identificados durante el examen físico de la visita de tratamiento final se registrarán como eventos adversos. No se realizarán exámenes ginecológicos y urogenitales, salvo causa justificada.
- 20 • Los exámenes físicos específicos incluirán una evaluación de los sistemas cutáneo, respiratorio, cardiovascular, linfático, y musculoesquelético. Los resultados de los exámenes físicos se registrarán únicamente en los documentos originales. Los hallazgos anormales clínicamente significativos identificados durante los exámenes físicos específicos se registrarán en el eCRF como eventos adversos. No se realizarán exámenes ginecológicos y urogenitales, salvo causa justificada.
- 25 • Se obtendrán ECG estándar de 12 derivaciones en la mayoría de las visitas del estudio. En los casos en los que coincidan los puntos de tiempo del ECG y la PK, se permitirá un intervalo de ±15 minutos para completar la evaluación (el ECG siempre debe evaluarse primero). Todos los ECG desde la Visita 2 en adelante deben realizarse con 5 minutos de diferencia después de que el sujeto haya estado en posición supina durante 3 minutos.
- 30 ◦ En la selección: se realizará un ECG
- 35 ◦ En las visitas de tratamiento requeridas: Se realizarán 3 ECG antes de la dosis
- 40 ◦ En la fase de seguimiento observacional: se realizará un ECG. Se deben evitar agentes y/o medicamentos estimulantes, por ejemplo cafeína, bebidas energéticas, regaliz, teofilina, etc., antes de la realización del ECG.
- 45 Se usará el mismo equipo de ECG durante todo el estudio. Todos los registros de ECG serán sobreleídos manualmente de forma continua por un cardiólogo en el laboratorio central de ECG para la medida del QT y el cálculo del QTc usando la fórmula de Bazett y Fridericia.
- 50 • Evaluaciones de laboratorio
- 55 ◦ Prueba de embarazo (orina y/o suero) para todas las FCBP
- 60 ◦ Química sérica (incluyendo proteínas totales, albúmina, calcio, fósforo, glucosa, ácido úrico, bilirrubina total, fosfatasa alcalina, AST [SGOT], ALT [SGPT], lipasa, sodio, potasio, cloruro, bicarbonato, nitrógeno ureico en sangre, creatinina, lactato deshidrogenasa, [LDH], magnesio)
- 65 ◦ Hematología (hemograma completo con diferencial y plaquetas, recuento absoluto de leucocitos, apolipoproteínas, colesterol total)
- 66 ◦ Vitaminas liposolubles (A, D, E, K)
- 67 ◦ PT, INR y PTT
- 68 ◦ Análisis de orina (proteína microscópica y cuantitativa)
- 69 ◦ Títulos de toxoide tetánico, meningococo, neumococo y gripe

- Panel de inflamación (incluyendo velocidad de sedimentación globular [ESR], fibrinógeno, proteína C reactiva de alta sensibilidad [hs-CRP], amiloide A sérico)

5 o Prueba de detección de hepatitis (incluye pruebas de anticuerpos y antígenos de superficie de la hepatitis B, anticuerpos centrales de la hepatitis B (IgG/IgM), y anticuerpos contra la hepatitis C)

- Evaluación cuantitativa de inmunoglobulinas [inmunoglobulina A (IgA), inmunoglobulina M (IgM) e inmunoglobulina G (IgG)]

10 o Perfil antifosfolípidos del lupus (anticoagulante lúpico, anticuerpos anticardiolipina, anticuerpos contra la beta-2-glicoproteína I y fosfatidilserina). Las instrucciones detalladas para la obtención, procesamiento, almacenamiento, envío y manipulación de muestras se proporcionarán a los sitios en un manual aparte.

15 • Los exámenes oftalmológicos se realizarán por un oftalmólogo cualificado. Las pruebas incluirán exámenes de agudeza visual y exámenes con lámpara de rendija con tinción con fluoresceína tras la dilatación pupilar, centrándose en la cámara anterior, el iris y el vítreo anterior (a menos que el uso de fluoresceína esté contraindicado, por ejemplo debido a hipersensibilidad).

20 **Programa de asesoramiento para la prevención del embarazo de Celgene (CPPCP).**

C. Evaluaciones de eficacia

25 En el caso de que un sujeto haya tomado analgésicos sistémicos dentro de las 12 horas posteriores a una visita del estudio y/o antipururiginosos sistémicos dentro de las 48 horas posteriores a una visita, su visita debe reprogramarse. Los cuestionarios de evaluación de la salud deben completarse antes de cualesquiera otras actividades del estudio, de manera que las respuestas reflejen con mucha precisión las experiencias de los sujetos antes de la visita del estudio. Si el sujeto necesita ayuda para completar los cuestionarios, la asistencia sólo debe ser brindada por el personal del estudio y no por 30 miembros de la familia. Las evaluaciones CLASI, DAS28, SELENA SLEDAI híbrido y PGA deben realizarse por el mismo investigador o subinvestigador capacitado durante todo el estudio.

Evaluación de puntuación de actividad CLASI

35 La puntuación de actividad CLASI oscila de 0 a 70. Para generar la puntuación de actividad, el eritema se puntúa en una escala de 0 (ausente) a 3 (rojo oscuro; violeta/violáceo/con costras/hemorrágico) y las escamas/hipertrofia se puntúan en una escala de 0 (ausente) a 2 (verrugosa/hipertrófica). Tanto las puntuaciones de eritema como de escamas/hipertrofia se evalúan en 13 ubicaciones anatómicas diferentes. Además, la presencia de lesiones de las membranas mucosas se puntúa en una escala de 0 (ausente) a 1 (lesión o ulceración), se capta la aparición de pérdida reciente de cabello (1=sí; 40 0=no), y la alopecia no cicatricial se puntúa en una escala de 0 (ausente) a 3 (focal o irregular en más de un cuadrante). Para calcular la puntuación de actividad, se suman todas las puntuaciones de eritema, escamas/hipertrofia, lesiones de las membranas mucosas, y alopecia.

Evaluación de puntuación de daños CLASI

45 La puntuación de daño CLASI oscila de 0 a 56. Para generar la puntuación de daño, la despigmentación se puntúa en una escala de 0 (ausente) a 1 (despigmentación), y las cicatrices/atrofia/paniculitis se puntúan en una escala de 0 (ausente) a 2 (cicatrización atrófica grave o paniculitis). Tanto las puntuaciones de despigmentación como de cicatrización/atrofia/paniculitis se evalúan como una duración habitualmente mayor o menor de 12 meses para el sujeto. 50 Si la despigmentación dura habitualmente más de 12 meses, la puntuación de despigmentación realizada para las 13 áreas anatómicas se duplica. Además, la cicatrización del cuero cabelludo (juzgada clínicamente) se puntúa en una escala de 0 (ausente) a 6 (afecta a todo el cráneo). Para calcular la puntuación de daño, se suman todas las puntuaciones de despigmentación, cicatrización/atrofia/paniculitis, y cicatrización del cuero cabelludo.

55 **Evaluación global del médico (PGA)**

La PGA usa una escala visual analógica con puntuaciones entre 0 y 3 para indicar el empeoramiento de la enfermedad. La puntuación es como sigue:

- 60 • 0 = ninguna
 • 1 = enfermedad leve
 • 2 = enfermedad moderada

- 3 = enfermedad grave

Este es un instrumento administrado al médico que se usa para medir el estado de salud general de un sujeto. Un aumento del 10 % (0,3 puntos) se considera un empeoramiento de la enfermedad clínicamente relevante.

5

Recuento de articulaciones hinchadas y sensibles

Con esta herramienta, la sensibilidad y la hinchazón de las articulaciones se registrarán como "presentes" o "ausentes", sin cuantificar su gravedad. Para mantener la coherencia a lo largo del estudio, el mismo evaluador debe realizar las evaluaciones de las articulaciones para un sujeto dado en un sitio de estudio en cada visita de estudio.

10

SELENA SLEDAI híbrido

El SELENA SLEDAI híbrido mide la actividad de la enfermedad mediante la evaluación de 24 manifestaciones de lupus usando una puntuación ponderada de 1 a 8 puntos. Una disminución de 4 o más puntos en el SELENA SLEDAI Híbrido se considera clínicamente significativa. Se registra una manifestación si está presente durante los 10 días anteriores, independientemente de su gravedad o si ha mejorado o empeorado. Lo que diferencia al SELENA SELEDAI híbrido del SELENA SLEDAI es la definición de proteinuria. El SELENA SLEDAI híbrido define la proteinuria como > 0,5 g/24 horas - se ha eliminado de la definición "nueva aparición o aumento reciente de más de 0,5 g/24 horas".

20

Escala numérica de dolor pericárdico/pleurítico

Cada escala se puntúa usando valores numéricos de 1 a 10 - representando 1 "sin dolor" y representando 10 "el peor dolor posible". Ambas escalas de dolor serán autoadministradas por el sujeto y medirán la gravedad de su dolor de LES relacionado con el malestar pericárdico y pleurítico. Cualquier indicación de los sujetos o de las evaluaciones del estudio, aparte del dolor, que indiquen manifestaciones pericárdicas o pleuríticas clínicamente significativas de LES debe investigarse a fondo. Si se encuentran complicaciones clínicamente significativas relacionadas con el LES, se debe suspender al sujeto del estudio durante el período de seguimiento observacional, y tratarlo adecuadamente.

30

D. Evaluaciones de calidad de vida (QoL)

Las evaluaciones requeridas se completarán como se muestra en las Tablas 1 y 2.

SF-12

35

El SF-12 es un instrumento autoadministrado que consiste en 8 escalas de múltiples ítems que evalúan 8 dominios de salud: 1) limitaciones en las actividades físicas por problemas de salud; 2) limitaciones en las actividades sociales por problemas físicos o emocionales; 3) limitaciones en las actividades habituales por problemas de salud física; 4) dolor corporal; 5) salud mental general (angustia psicológica y bienestar); 6) limitaciones en las actividades habituales por problemas emocionales; 7) vitalidad (energía y fatiga); y 8) percepciones de salud general. Los conceptos medidos por el SF-12 no son específicos de ninguna edad, enfermedad, o grupo de tratamiento, lo que permite comparar la carga relativa de diferentes enfermedades y el beneficio relativo de diferentes tratamientos.

FACIT-F

45

La escala FACIT-Fatiga es un cuestionario autoadministrado de 13 ítems que evalúa las consecuencias físicas y funcionales de la fatiga. Cada pregunta se responde en una escala de 5 puntos, en la que 0 significa "nada" y 4 significa "mucho". Las puntuaciones más altas denotan mayores niveles de fatiga. Se espera que la puntuación FACIT-Fatiga disminuya a medida que se realicen mejoras en el LES de los sujetos.

50

EQ-5D

55

El EQ-5D mide el estado de salud general del sujeto como una escala EVA vertical y 6 dominios de calidad de vida como preguntas de opción múltiple: movilidad, autocuidado, actividad principal (trabajo, estudio, tareas domésticas), actividades familiares/de ocio, dolor/malestar, y ansiedad/depresión, cuya combinación genera 216 posibles estados de salud.

DLQI

60

El sujeto evaluará el DLQI a su llegada al sitio antes de realizar cualquier otro procedimiento o evaluación. El DLQI se desarrolló como un cuestionario simple, compacto y práctico para uso en un entorno clínico de dermatología para evaluar las limitaciones relacionadas con el impacto de las enfermedades de la piel. El instrumento contiene diez ítems relacionados con la piel del sujeto. Con la excepción del ítem número 7, el sujeto responde en una escala de cuatro puntos, que oscilan desde "Mucho" hasta "Nada". El ítem número 7 es un ítem de varias partes, la primera parte determina si la piel del sujeto le impidió trabajar o estudiar (Sí o No), y si responde "No", entonces se le pregunta al sujeto cuán problemática ha sido su piel en el trabajo o estudiando durante la última semana, siendo las alternativas de respuesta "Mucho", "Un poco", o "Nada". La puntuación total de DLQI tiene un intervalo posible de 0 a 30, correspondiendo 30 a la

peor calidad de vida y 0 a la mejor puntuación. Los desarrolladores sugieren que el DLQI se pueda agrupar en seis subescalas: síntomas y sensaciones; actividades diarias; ocio; trabajo/escuela; relaciones personales; y tratamiento. Las puntuaciones para cuatro de las subescalas (síntomas y sensaciones, actividades diarias, ocio, y relaciones personales) oscilan de 0 a 6; las puntuaciones para dos de las subescalas (trabajo/escuela y tratamiento) oscilan de 0 a 3. Las puntuaciones más altas corresponden a una peor calidad de vida.

5

LupusPRO

LupusPRO es una herramienta de resultados informados por el paciente dirigida a la enfermedad para pacientes con LES. 10 Se desarrolló a partir de pacientes estadounidenses con LES étnicamente diversos. Ha sido validado para uso en EE. UU. Tiene 43 ítems, de los cuales 30 son para calidad de vida relacionada con la salud (Jolly, 2007; Jolly, 2008; Cervera, 2010).

Índice de Discapacidad del Cuestionario de Evaluación de la Salud (HAQ-DI)

15

El HAQ-DI es un instrumento autoadministrado de 20 preguntas que mide la capacidad funcional del sujeto en una escala de dificultad de 4 niveles (0 a 3, en la que 0 representa normal o ninguna dificultad; y 3 representa una incapacidad para desempeñarse). Se incluyen ocho categorías de funcionamiento: vestirse, levantarse, comer, caminar, higiene, alcance, agarre, y actividades habituales (Bruce et al., J. Rheumatol., 2003, 30:167-78). Esta escala es sensible al cambio, y es un 20 buen predictor de discapacidad futura (Aletaha et al., Rheum. Dis. Clin. North Am., 2006, 32:9-44).

20

E. Otras evaluaciones - farmacocinética

Todos los sujetos participarán en PK dispersa como un participante en el estudio principal. La finalización de la 25 farmacocinética intensiva requiere que el sujeto haya dado su consentimiento mediante la autorización escrita del subestudio. Se recogerán muestras de PK tanto intensivas como dispersas para evaluar la PK del Compuesto 1A. También se pueden medir muestras de PK intensivas para el enantiómero R. La información sobre la dosificación y la 30 recogida de muestras, incluido el nivel de dosis del Compuesto 1A, la fecha de dosificación, la hora de dosificación (reloj de 24 horas), y el tiempo real de muestreo de sangre de PK (reloj de 24 horas) deben documentarse con precisión en las páginas apropiadas del eCRF.

Muestreo de PK dispersa

A todos los demás sujetos que no participen en la parte de PK intensiva del estudio se les recogerán muestras de PK 35 dispersas. Se extraerán muestras de sangre farmacocinética (aproximadamente 12 ml en total) en sujetos (a menos que el sitio no tenga capacidades de PK) que no participen en el muestreo de PK intensiva en los siguientes momentos: Días 15, 29, 57 y 85: una muestra previa a la dosis por visita.

Muestreo de PK intensiva

40

La participación en la evaluación de PK intensiva será un subestudio opcional para el cual se firmará una autorización escrita distinta en el momento de la selección. Se realizará una extracción frecuente de muestras de sangre de PK (aproximadamente 57 ml en total) en un mínimo de 4 sujetos por grupo de tratamiento (un total de 32 sujetos como mínimo) en los siguientes momentos:

45

- Visita 2 (Línea de base - Día 1): predosis (Tiempo = 0), 1, 2, 3, 4, entre 6 y 8 horas y 24 horas (\pm 5 horas) después de la administración del IP.
- Visita 4 (Día 15): una muestra previa a la dosis por visita
- Visita 6 (Día 29): predosis (Tiempo = 0), 1, 2, 3, 4, entre 6 y 8 horas y 24 horas (\pm 5 horas) después de la administración del IP.
- Visitas 8 y 10 (días 57 y 85): una muestra previa a la dosis por visita

55

El IVRS se usará para garantizar la inclusión de un mínimo de 4 participantes de PK intensiva por grupo de dosis. Las muestras farmacocinéticas deben obtenerse dentro de los siguientes períodos de recogida:

60

- -30 a -5 minutos para la muestra previa a la dosis
- \pm 10 minutos para las muestras obtenidas en los momentos de 1 - 4 horas
- \pm 20 minutos para las muestras obtenidas en el momento de entre 6 y 8 horas

- ± 5 horas para la muestra obtenida en el momento de 24 horas (esta muestra debe obtenerse antes de la segunda dosis)

5 En cada momento, se extraerán aproximadamente 3 ml de sangre. Se determinará la concentración del Compuesto 1A en plasma.

10 En todas las visitas de PK, los sujetos deben traer su IP al centro del estudio, y el IP debe administrarse a los sujetos en el centro del estudio después de la extracción de la muestra de sangre de PK previa a la dosis. Se pedirá a los sujetos que informen la fecha y hora de su última dosis de IP (antes del día actual de la visita del estudio) al personal del estudio durante su visita al centro del estudio. El personal del estudio también debe documentar el tiempo de dosificación de IP el día de la obtención de la muestra de PK.

15 En los casos en los que los puntos temporales de ECG y PK coincidan, se permitirá un intervalo de ± 15 minutos para completar la PK (el ECG siempre debe evaluarse primero).

F. Otras evaluaciones - farmacodinamia

Biomarcadores de sangre periférica

20 Las medidas de biomarcadores en sangre de PD se recopilarán como sigue:

- Interacción del fármaco con la diana: Aiolos e ikaros de sangre periférica mediante citometría de flujo el día 1, el día 29, el día 57 y el día 85 en la Parte 1, y el día 1 en la Parte 2
- Sistema inmunitario: Células B de sangre periférica, células T, subconjuntos de linfocitos CD3+, CD4+, CD8+, CD16+/56, CD 19+, y células dendríticas (DC) mediante citometría de flujo el día 1, el día 29, el día 57 y el día 85.
- Marcadores de enfermedad: Autoanticuerpos de lupus/Panel del complemento (anti-Ro, anti-La, anti-ADNbc, anti-smith, factor reumatoide, anti-RNP, C3, C4, CB-CAP, CH50, ANA, ANCA, anticuerpos antitiroideos) el día 1, 8, 29, 57 y Día 85 (o Terminación Prematura), y Días 113, 141 (sólo Parte 1) y 169 (sólo Parte 1) de la Fase de seguimiento observacional

G. Otras evaluaciones - farmacogénica

35 La participación en la evaluación PG será un subestudio opcional para el cual se firmará una autorización escrita distinta en el momento de la selección. El intento es obtener tantos sujetos como sea razonable. Se obtendrá una única muestra de sangre al inicio del estudio para el análisis genético, para evaluar los marcadores genéticos asociados con la eficacia o seguridad del Compuesto 1A. Las pruebas farmacogenéticas se realizarán utilizando ADN aislado de sangre extraída al inicio del estudio. Se examinará el ADN para detectar la presencia de polimorfismos en o cerca de los genes asociados con el LES (incluyendo, pero sin limitarse a, los siguientes genes: IKZF1 (gen que codifica Ikaros), IKZF3 (gen que codifica Aiolos), PRDM1 (gen que codifica BLIMP-1), HLA-DRB1, BLK, BANK1, TNFAIP3, STAT4, IRF5, TNFSF4, TRIM27, OR2H2, MICB, CREBL1, HSD17B, JAZF1, ATG5, PTTG1, PXK, ITGAM, ETS1, LRRC18- WDFY4, RASGRP3, SLC15A4, TNIP1, IRF8, IL10, NCF2, IFIH1, TYK2, y los genes relacionados con la diana del Compuesto 1A CCRN (gen que codifica cereblon) y CUL4A).

H. Otras evaluaciones - inmunización

50 La participación en el subestudio de inmunización será opcional, para el que se firmará una autorización escrita distinta en el momento de la selección. El efecto del Compuesto 1A sobre las inmunizaciones en sujetos con LES se monitorizará midiendo los títulos de toxoide tetánico, meningocócico y neumocócico durante el estudio. Los sujetos que cumplen con los requisitos (según sus antecedentes médicos) tendrán la oportunidad de participar en un subestudio de inmunización en el que recibirán vacunas de toxoide tetánico y meningocócicas o neumocócicas al comienzo del período de tratamiento.

55 Los sujetos que acepten participar en el subestudio de vacunación deben cumplir con los requisitos para cada tipo de vacunación según el siguiente conjunto de criterios:

- Toxoide tetánico
 - La recepción de la vacuna fue menos de 5 años antes del inicio
 - Es seguro proporcionar al sujeto según el criterio del investigador
- Meningocócica/neumocócica

- 5 ◦ El sujeto puede recibir sólo la vacuna neumocócica o meningocócica - no ambas. Si el sujeto no ha recibido ninguna de las vacunas dentro de los 5 años anteriores a la Visita Inicial, sólo se debe administrar la vacuna neumocócica. Los sujetos sólo serán elegibles para la vacuna meningocócica si han recibido la vacuna neumocócica dentro de los 5 años de la Visita Inicial y no han recibido la vacuna meningocócica dentro de los 5 años de la Visita Inicial. Si el sujeto también recibió la vacuna meningocócica dentro de los 5 años de la Visita Inicial, no será elegible para recibir ninguna de las vacunas.
- 10 ◦ Es seguro proporcionar al sujeto según el criterio del investigador

6.3 EJEMPLO 3: SOBREEXPRESIÓN DE ARNm DE C RBN, IKZF1 E IKZF3 EN PBMC DE LES

Se obtuvieron PBMC viablemente congeladas de voluntarios sanos ($N = 10$) o de pacientes con LES ($N = 11$) de Conversant Bio (Huntsville, AL). Las células se descongelaron rápidamente a 37°C , se lavaron en PBS, se peletizaron con centrifugación, y se lisaron inmediatamente en amortiguador RLT. El ARN total se purificó con kits de minicolumna de centrifugación RNeasy (n.^o de catálogo 74104) usando el sistema QIAcube™ (Qiagen, Valencia, CA). El ARN purificado se transcribió de forma inversa en ADNc usando un kit de transcriptasa inversa (Applied Biosystems). La RT-PCR cuantitativa en tiempo real se realizó usando sondas de PCR Taqman® específicas para C RBN (A), IKZF1 (B) e IKZF3 (C) en el sistema de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RT-PCR) ViiA7 (Applied Biosystems) por duplicado. La cantidad de producto se normalizó a gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa como gen constitutivo endógeno. El aumento, en número de veces, de la expresión génica se calculó usando el método Ct comparativo ($2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$). Los valores de P se generaron usando una prueba de la t no apareada.

25 En las FIG. 2A, FIG. 2B, y FIG. 2C, respectivamente, se representa la expresión de los genes que codifican Cereblon (CRBN), Ikaros (IKZF1) y Aiolos (IKZF3) en células mononucleares de sangre periférica de pacientes con LES en comparación con controles normales. Los resultados demuestran la sobreexpresión de ARNm de CRBN, IKZF1 e IKZF3 en PBMC de LES. En comparación con las PBMC normales ($N = 10$), las PBMC de LES ($N = 11$) expresaron niveles significativamente más altos de cereblon (CRBN), Ikaros (IKZF1) y Aiolos (IKZF3).

30 6.4 EJEMPLO 4: EFECTOS DEL COMPUESTO 1A SOBRE LOS NIVELES DE PROTEÍNAS AIOLOS E IKAROS

35 Se trató sangre completa humana heparinizada procedente de voluntarios sanos normales (Bioreclamation, Westbury, NY) con DMSO al 0,1 % y Compuesto 1A (1, 10, 100 nM) durante 18 horas a 37°C , CO₂ al 5 %. Después de 18 horas, la sangre se lisó y se fijó con 1X Lyse/Fix Buffer (BD Biosciences) durante 10 minutos a 37°C . Las células se lavaron con PBS frío, y las células se tiñeron primero de forma multicolor con mAb de ratón anti-CD3 humano conjugado con PE, mAb de ratón anti-CD19 humano conjugado con APC, y mAb de ratón anti-CD14 humano conjugado con PerCP (todos de BD Biosciences), para identificar células T CD3+, células B CD19+ y monocitos CD14+, respectivamente. Las células se permeabilizaron entonces añadiendo BD Perm/Wash Buffer I. Se bloqueó la unión no específica añadiendo reactivo de bloqueo FcR (Miltenyi Biotech) durante 10 minutos antes de la tinción para determinar el contenido intracelular de Aiolos 40 o Ikaros. Después, las células se tiñeron con Ab policlonal de conejo anti-Aiolos humana (Santa Cruz, dilución 1:200 en amortiguador Perm/Wash Buffer) o Ab policlonal anti-Ikaros humana (Santa Cruz, dilución 1:50 en amortiguador Perm/Wash Buffer), seguido de un mAb de cabra anti-AF488 de conejo (Invitrogen, a una dilución de 1:400 en amortiguador Perm/Wash Buffer), para probar los niveles intracelulares de Aiolos o Ikaros. También se usó IgG de conejo 45 normal (R&D Systems) como control de isotipo. Los niveles de proteínas Aiolos e Ikaros en células B, células T, monocitos y granulocitos se analizaron mediante FACSCanto con FACSDiva 6 (BD Biosciences) en base al agrupamiento de células CD3+, células CD19+, células CD14+, y granulocitos (FSC/SSC). El análisis de los datos se realizó usando el software Flowjo (Tree Star).

50 Los resultados demuestran que el Compuesto 1A redujo los niveles de proteína Aiolos e Ikaros en subconjuntos de leucocitos de sangre completa que incluyen células B CD19+ (FIG. 3A), células T CD3+ (FIG. 3B), monocitos CD14+ (FIG. 3C), y granulocitos (FIG. 3D).

55 Las PBMC se purificaron a partir de capas leucocitarias humanas usando el método de Ficoll-Paque. Las células B CD19+ se aislaron de PBMC siguiendo el protocolo del cóctel de enriquecimiento de células B humanas EasySep (StemCell Technologies, n.^o de catálogo 19054). Se preparó un cóctel de células B recientes añadiendo 50 µg/ml de transferrina humana al medio de células B (medio de Iscove con 10 % de PFBS, 1 % de P/S, y 5 µg/ml de insulina humana). El volumen requerido de medio necesario para el experimento se filtró a través de un filtro de 0,22 micrómetros. Cóctel de diferenciación de células B (concentración final): interleucina humana recombinante IL-2 (20 U/ml), IL-10 (50 ng/ml), IL-15 (10 ng/ml), ligando CD40/TNFSF5/etiquetado con histidina (50 ng/ml), anticuerpo IgG1 de ratón con polihistidina (5 µg/ml), y ligando ODN 2006-TLR9 humano (10 µg/ml). Las células CD19+ se trataron previamente durante 1 hora con el Compuesto 1A o un inhibidor de Syk o DMSO al 0,1%, después se incubaron con medio de diferenciación de células B durante los tiempos indicados.

65 Después de la incubación, las células se recogieron, se peletizaron con centrifugación, y se lisaron inmediatamente en 0,1 ml de amortiguador de lisis que contenía Tris-HCl 10 mM, pH 8,0, EDTA 10 mM, NaCl 150 mM, NP-40 al 1 %, SDS al 0,5 %, DTT 1 mM, Na3VO4 1 mM, más cóctel inhibidor de proteasas CompleteTM (Roche Applied Science, Indianápolis,

Indiana), después se procesaron con un QIAshredder™ (Qiagen) durante 1 minuto y se congelaron en hielo seco. Las muestras se diluyeron con amortiguador de muestra SDS 6 x, y después se hirvieron durante 5 minutos. Se cargaron aproximadamente 15 µl de esta mezcla por carril en un gel Criterion Precast 10% Tris-HCl (Bio-Rad Laboratories, Hercules, California), se sometieron a electroforesis, y se transfirieron a membranas de nitrocelulosa (Bio-Rad). Las membranas se bloquearon durante 1 hora a temperatura ambiente utilizando un amortiguador de bloqueo (LI-COR Biosciences, Lincoln, Nebraska), y después se incubaron durante la noche a 4°C con anticuerpos contra Aiolos, Ikaros, o β-actina. Las membranas se lavaron y se incubaron con anticuerpos secundarios IRDye (1:25.000) durante 1 hora a temperatura ambiente. Entonces se siguió un protocolo estándar para la detección de señales y la cuantificación de las bandas, usando el software y el sistema de imágenes infrarrojas Odyssey® (LI-COR Biosciences).

En la FIG. 4A y FIG. 4B, respectivamente, se representa el efecto del Compuesto 1A sobre los niveles de proteínas Aiolos e Ikaros durante el cultivo de células B CD19+. Ikaros y Aiolos se midieron mediante transferencia Western.

Se obtuvieron muestras de sangre completa de pacientes identificados con LES de Sanguine Biosciences; Inc., la sangre se diluyó con solución salina amortiguada con fosfato de Dulbecco (DPBS) estéril, y se colocó en tres tubos cónicos de 50 ml. Se colocaron suavemente por debajo de la capa aproximadamente 12 ml de Ficoll-Plaque en cada tubo, y los tubos se centrifugaron a 1000 g durante 35 minutos sin freno. La interfaz que contenía células mononucleares se recogió y se transfirió a dos tubos cónicos de 50 ml, y el volumen en cada tubo cónico se ajustó a 50 ml usando DPBS. Las células mononucleares se lavaron con DPBS para eliminar Ficoll y plaquetas, y después de tres lavados, el pelete celular se resuspenderá en 40 ml de medio de células B (medio de Dulbecco modificado de Iscove + 10 % de suero fetal bovino (FBS), 1 % de penicilina/estreptomicina P/S, y 2 mM de L-Glutamina) para obtener una viabilidad y recuento celular usando el método de exclusión del colorante azul tripano. Las PBMC se activaron usando el cóctel de diferenciación de células B descrito para la FIG. 4A y FIG. 4B anteriormente. Los sobrenadantes de los cultivos celulares se cosecharon y se analizaron en busca de autoanticuerpos usando un kit ELISA de anticuerpos anti-ADN bícatenario (Orgentec ORG 604S) y un kit ELISA de anti-cardiolipina/fosfolípidos (Orgentec ORG-529).

El Compuesto 1A también inhibió la producción de autoanticuerpos de LES in vitro (FIG. 5A y FIG. 5B). En cultivos de PBMC de LES, el Compuesto 1A inhibió la producción de autoanticuerpos anti-ADNbc (N = 9) y autoanticuerpos antifosfolípidos (N = 8) con una IC₅₀ de aproximadamente 10 nM.

6.5 EJEMPLO 5: EFECTOS DEL COMPUESTO 1A EN VOLUNTARIOS SANOS

A voluntarios sanos se les administró placebo (n=10) o Compuesto 1A en dosis de 0,03 mg, 0,1 mg, 0,3 mg, 1 mg, o 2 mg (N=6 cada uno). Se extrajeron muestras de sangre antes de la dosificación, o 3 h, 12 h y 24 h después de la dosificación. Las muestras de sangre se lisaron y fijaron inmediatamente mezclando 1 volumen de sangre con 20 volúmenes de amortiguador Lyse/Fix 1x (BD Biosciences, n.º de cat. 558049) y mezclando bien, invirtiendo el tubo varias veces. Esta mezcla de muestra se incubó en un baño de agua a 37°C durante 10 minutos, y las células se peletizaron mediante centrifugación a 800 x g durante 5 minutos para eliminar el sobrenadante mediante aspiración. Las células se lavaron dos veces con 2 ml de disolución salina amortiguada con fosfato (PB) fría, después se permeabilizaron añadiendo 2 ml de amortiguador BD Cytofix/cytoperm frío, y se incubaron en hielo durante 15 minutos. Las células se centrifugaron, después se lavaron dos veces con amortiguador de BD perm/wash, y entonces se resuspendieron en 40 ul de amortiguador BD perm/wash. Las células se tiñeron con anticuerpo anti-CD3 o anti-CD19, y 20 ul de Ab anti-Aiolos (Santa Cruz Santa Cruz, IgG polyclonal de conejo, n.º de cat. sc-101982 a una dilución 1:200 con amortiguador de tinción), o 20 ul de controles de isotipo apropiados a las células. Las células se mezclaron a conciencia, y se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos en la oscuridad, se lavaron una vez con amortiguador BD perm/wash, después se resuspendieron en 80 ul de amortiguador BD perm/wash, y se añadieron 20 ul de anticuerpo secundario antes del análisis en un citómetro de flujo.

Los resultados demuestran que el Compuesto 1A redujo la expresión de Aiolos en células B (FIG. 6A) y en células T (FIG. 6B) en las cohortes de 0,3 mg, 1 mg y 2 mg en voluntarios sanos. La FIG. 6A muestra que, tras la administración de dosis únicas del Compuesto 1A a voluntarios sanos, hubo una disminución relacionada con el tratamiento en Aiolos intracelular de células B. A las 12 horas después de la dosis, los grupos de 1 y 2 mg tenían un porcentaje de valores iniciales del 28,2 % y 25,0 %, respectivamente. 24 horas después de la dosis, el grupo de 0,3 mg tenía un porcentaje de valores iniciales del 24,8 %. La FIG. 6B muestra que, tras la administración de dosis únicas del Compuesto 1A a voluntarios sanos, hubo una disminución relacionada con el tratamiento en Aiolos intracelular de células T. A las 12 horas después de la dosis, los grupos de 1 y 2 mg tenían un porcentaje de valores iniciales de 22,3 % y 26,1 %, respectivamente; y 24 horas después de la dosis, el grupo de 0,3 mg tenía un porcentaje de valores iniciales de 0 %.

El Compuesto 1A también redujo de forma dependiente de la dosis los recuentos de células B de sangre periférica (FIG. 7A) en voluntarios sanos. Hubo una disminución relacionada con la dosis en la respuesta máxima en células CD19+ absolutas entre 0,3 y 2 mg del Compuesto 1A, con un porcentaje medio de los valores iniciales del 73,5 % el día 3 para 0,3 mg, del 67,3 % el día 2 para 1 mg, y del 51,3 % el día 3 para 2 mg. Los recuentos absolutos de células B en la sangre periférica se midieron mediante citometría de flujo con anticuerpo anti-CD19, como se describió anteriormente.

El Compuesto 1A también redujo los recuentos de células T de sangre periférica (FIG. 7B) en voluntarios sanos. Los resultados muestran que la reducción de células T es más modesta que la reducción de células B. El día 2, el grupo de 0,3 mg tuvo un porcentaje de valor inicial del 84,1 %, y el grupo de 1 mg tuvo un 79,4 %. El día 5, el grupo de 2 mg tenía

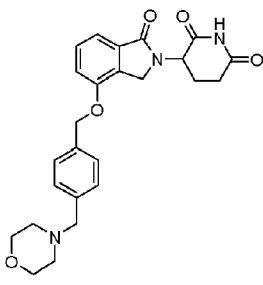
un porcentaje de valor inicial del 73,8 %. Los recuentos absolutos de células T en la sangre periférica se midieron mediante citometría de flujo con anticuerpo anti-CD3 como se describió anteriormente.

La sangre completa se estimuló con anticuerpo anti-CD3, y se analizó para determinar IL-2 usando el sistema CD3 TruCulture (número de parte 782-001202) de Myriad Rules Based Medicine (Austin, TX). La FIG. 8A muestra que la dosificación del Compuesto 1A en voluntarios sanos aumentó la producción de IL-2 (pg/ml) en sangre completa estimulada con anti-CD3 ex vivo. Hubo un aumento relacionado con la dosis en la IL-2 máxima en los grupos de 0,3, 1 y 2 mg, con un porcentaje medio de los valores iniciales de 315 %, 973 % y 915 %, respectivamente, 12 horas después de la dosis el Día 1.

Se estimuló sangre completa con lipopolisacárido, y se analizó la IL-1 β usando el sistema LPS TruCulture (número de parte 782-001087) de Myriad Rules Based Medicine (Austin, TX). La FIG. 8B muestra que el Compuesto 1A disminuyó de forma dependiente de la dosis la producción de IL-1 β ex vivo en voluntarios sanos en cohortes de 0,3 mg, 1 mg, y 2 mg. Para los niveles de dosis de 0,3, 1 y 2 mg, hubo una disminución relacionada con la dosis en la respuesta máxima de IL-1 β , con un porcentaje medio de los valores iniciales de 42,2 %, 21,8 % y 16,3 %, respectivamente, a las 12 horas después de la dosis.

REIVINDICACIONES

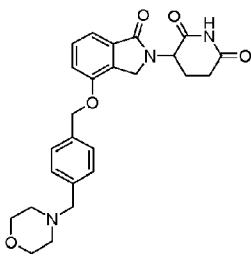
- 5 1. Un compuesto para uso en un método para tratar, prevenir o gestionar lupus eritematoso sistémico (LES), en el que el método comprende administrar a un paciente que lo necesita una cantidad eficaz del compuesto, en el que el compuesto es un compuesto de fórmula I



10 o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezcla racémica del mismo, en el que el compuesto se administra en una cantidad de 0,15 mg a 0,6 mg por día, y en el que la administración del compuesto continúa durante un período de 56 días.

2. El compuesto para uso de la reivindicación 1, en el que el LES es LES predominante en la piel.

15 3. Un compuesto para uso en un método para reducir, inhibir o prevenir un síntoma de lupus eritematoso sistémico (LES), que comprende administrar a un paciente que tiene el síntoma de lupus eritematoso sistémico una cantidad eficaz del compuesto, en el que el síntoma de lupus eritematoso sistémico se selecciona del grupo que consiste en dolor de las articulaciones, hinchazón de las articulaciones, artritis, dolor torácico al respirar profundamente, fatiga, fiebre sin otra causa, malestar general, desasosiego, caída del cabello, llagas en la boca, ganglios linfáticos inflamados, sensibilidad a la luz solar, erupción cutánea, cefaleas, entumecimiento, hormigueo, convulsiones, problemas de visión, cambios de personalidad, dolor abdominal, náuseas, vómitos, ritmos cardíacos anormales, tos con sangre y dificultad para respirar, coloración irregular de la piel y fenómeno de Raynaud, y en el que el compuesto corresponde a la fórmula I



25 o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezcla racémica del mismo, en el que el compuesto se administra en una cantidad de 0,15 mg a 0,6 mg por día, y en el que la administración del compuesto continúa durante un período de 56 días.

30 4. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el paciente tiene una puntuación de actividad del índice de gravedad y área del lupus cutáneo (CLASI) ≥ 10 .

35 5. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que el compuesto se administra en una cantidad de 0,3 mg cada dos días (QOD),
en una cantidad de 0,3 mg cada día (QD),
en una cantidad de 0,6 mg y 0,3 mg en días alternos, o
en una cantidad de 0,6 mg cada día (QD).

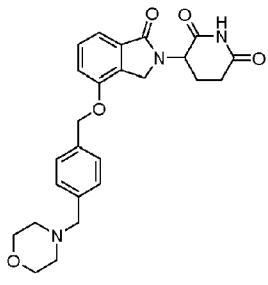
40 6. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que la administración del compuesto continúa durante un período de 84 días.

45 7. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que el compuesto se administra por vía oral, preferiblemente se administra en una cápsula, más preferiblemente en el que la cápsula tiene una cantidad de 0,3 mg, o se administra en un comprimido.

8. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en el que la administración del compuesto da como resultado un aumento de menos de 0,3 puntos en la evaluación global del médico (PGA), o da como resultado una

disminución de 4 o más puntos en el Índice de actividad de la enfermedad de lupus eritematoso sistémico SELENA híbrido (SLEDAI).

9. Un compuesto para uso en un método para evaluar la eficacia de un compuesto en el tratamiento, prevención o gestión del lupus eritematoso sistémico (LES), en el que el compuesto es un compuesto de fórmula I



10 o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, hidrato, estereoisómero, tautómero o mezcla racémica del mismo, en el que el método comprende:

- (a) administrar el compuesto a un sujeto que tiene LES;
- (b) obtener una primera muestra del sujeto;
- (c) determinar el nivel de un biomarcador en la primera muestra; y
- (d) comparar el nivel del biomarcador de la etapa (c) con un nivel de referencia del biomarcador, en el que un cambio en el nivel en comparación con la referencia es indicativo de la eficacia del compuesto en el tratamiento de LES, y en el que el biomarcador es un anticuerpo de LES, recuento de células B de sangre periférica, recuento de células T de sangre periférica, IL-1 β o IL-2.

20 10. El compuesto para uso de la reivindicación 9, que comprende además ajustar la cantidad del compuesto administrado al sujeto.

25 11. El compuesto para uso de la reivindicación 9 o 10, en el que la referencia se prepara usando una segunda muestra obtenida de un sujeto sano que no tiene LES; y en el que la segunda muestra proviene de la misma fuente que la primera muestra; o en el que la referencia se prepara usando una segunda muestra obtenida del sujeto antes de la administración del compuesto; y en el que la segunda muestra proviene de la misma fuente que la primera muestra.

30 12. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 9-11, en el que el biomarcador es un autoanticuerpo anti-ADNbc, un autoanticuerpo anti-fosfolípido, un recuento de células B de sangre periférica, un recuento de células T de sangre periférica, o IL-1 β , y una disminución en el nivel del biomarcador en la primera muestra en comparación con la referencia es indicativa de la eficacia del compuesto en el tratamiento del LES; o en el que el biomarcador es IL-2, y un aumento en el nivel del biomarcador en la primera muestra en comparación con la referencia es indicativo de la eficacia del compuesto en el tratamiento del LES.

35 13. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 9-12, en el que se mide el nivel de sólo uno de los biomarcadores, o en el que los niveles de dos o más de los biomarcadores se monitorizan simultáneamente, o en el que la primera muestra son células mononucleares de sangre periférica (PBMC), o en el que la primera muestra son leucocitos de sangre completa, preferiblemente en el que los leucocitos de sangre completa son células B CD19+, células T CD3+, monocitos CD14+, o granulocitos.

40 14. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 9-13, en el que los niveles de uno o más de los biomarcadores se miden determinando los niveles de ARNm de los biomarcadores, o en el que los niveles de uno o más de los biomarcadores se miden determinando los niveles de ADNc de los biomarcadores, o en el que los niveles de uno o más de los biomarcadores se miden determinando los niveles de proteína de los biomarcadores.

45 15. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en el que el compuesto es (S)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetilbenciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindo-2-il]piperidin-2,6-diona.

50 16. El compuesto para uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en el que el compuesto es hidrocloruro de (S)-3-[4-(4-morfolin-4-ilmetilbenciloxi)-1-oxo-1,3-dihidro-isoindo-2-il]piperidin-2,6-diona.

DISEÑO GLOBAL DEL ESTUDIO

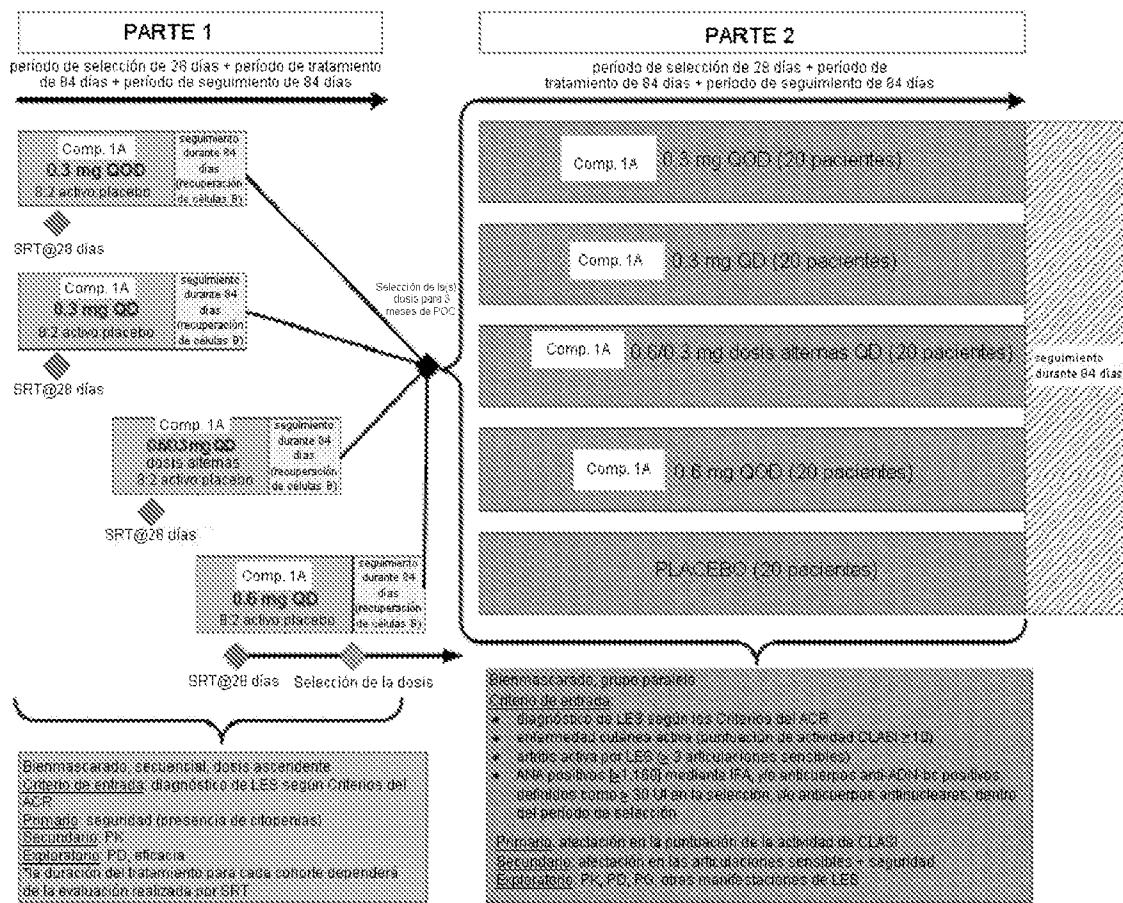


FIG. 1

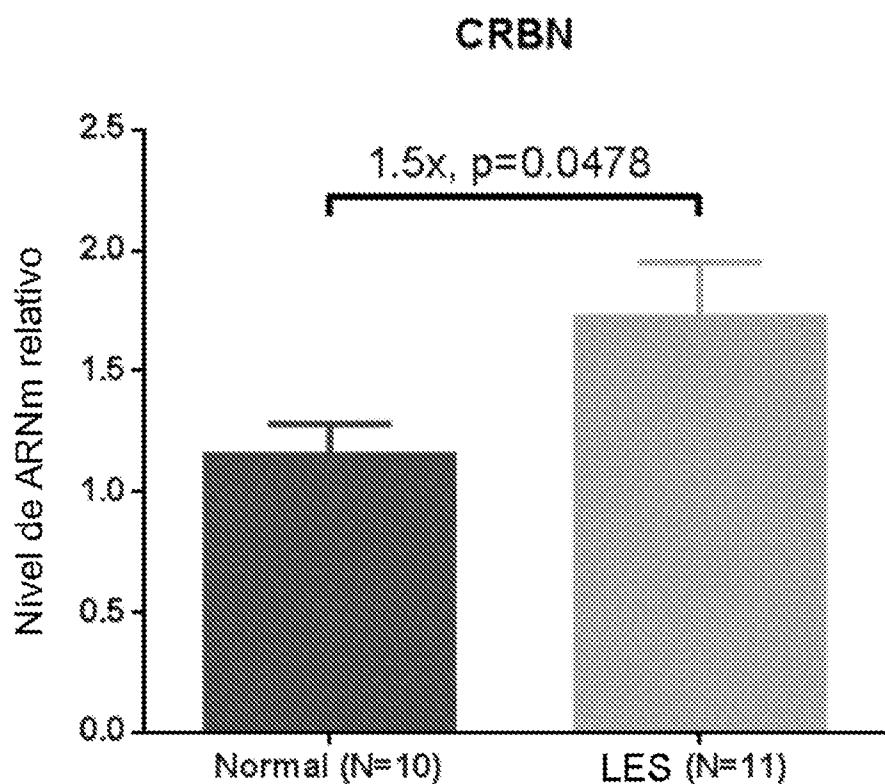


FIG. 2A

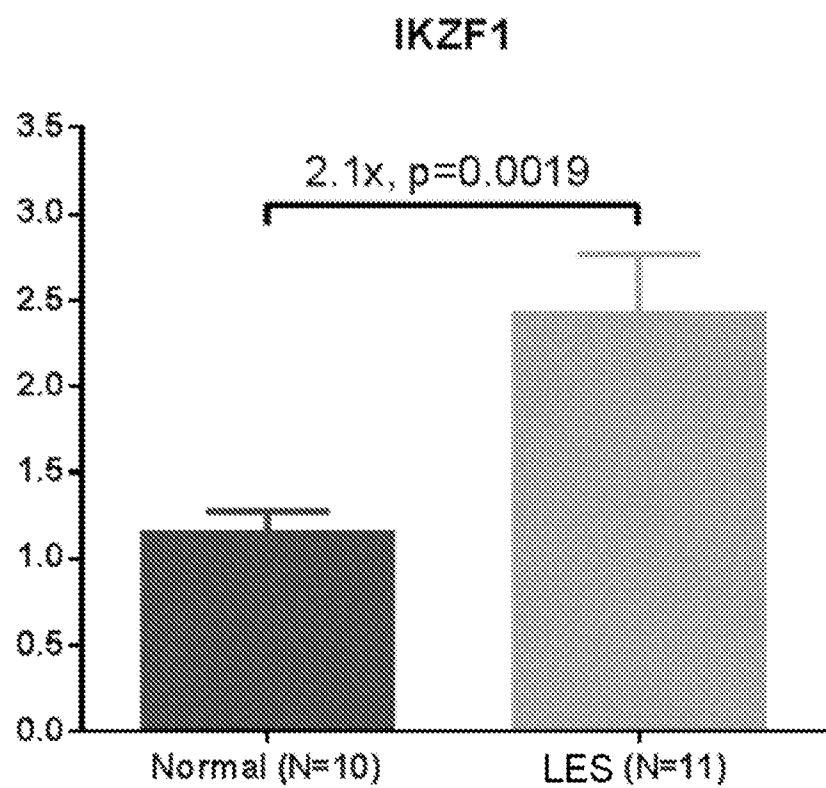


FIG. 2B

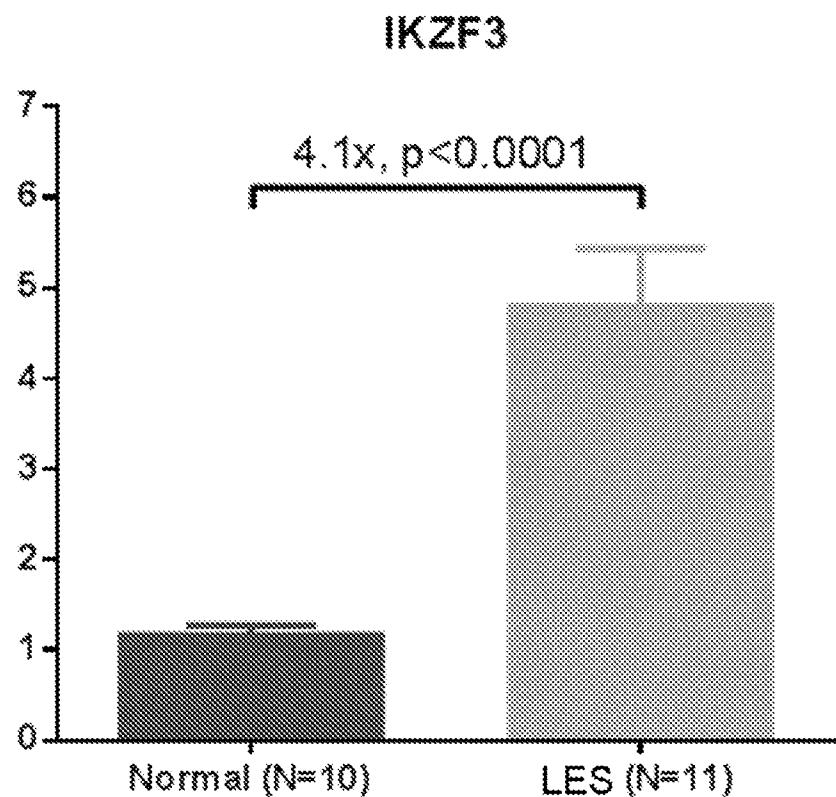


FIG. 2C

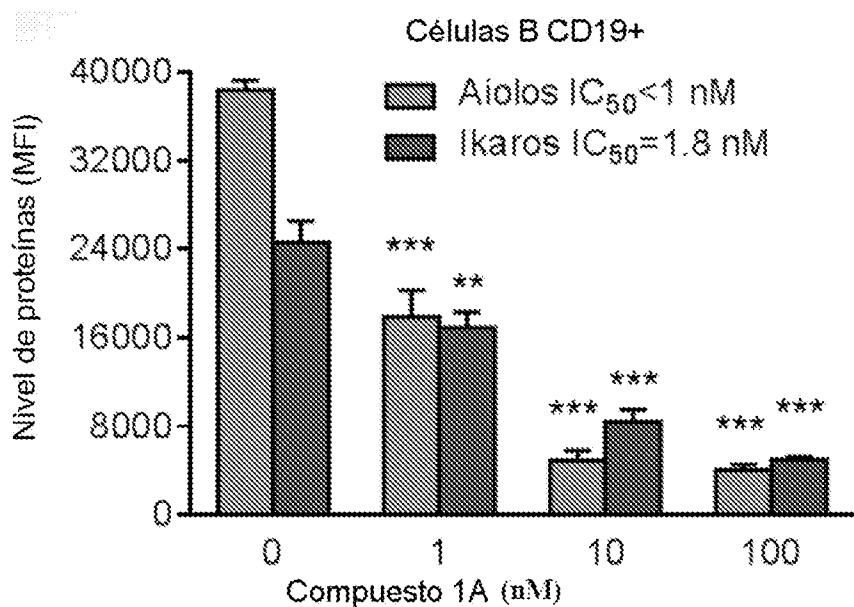


FIG. 3A

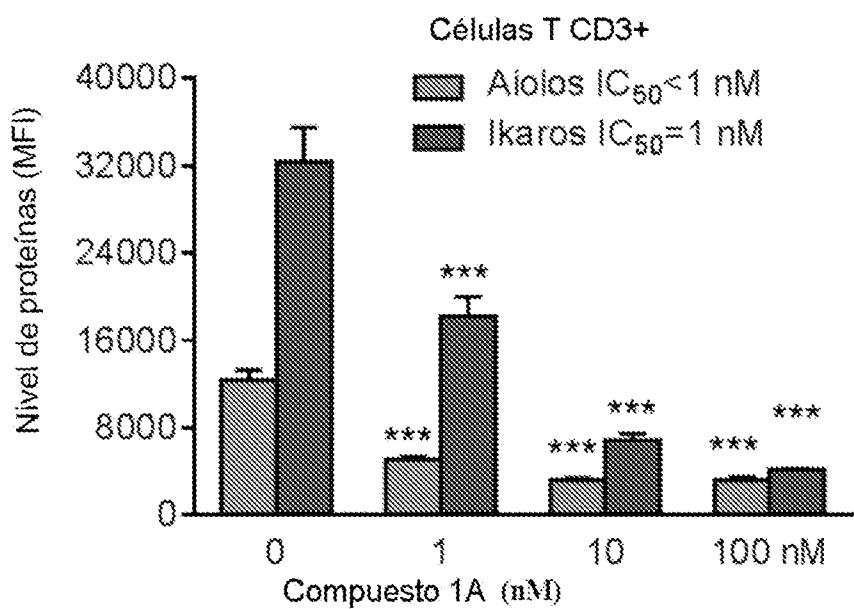


FIG. 3B

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001 frente a control (N=3) ANOVA de una vía / prueba de comparación múltiple de Dunnett

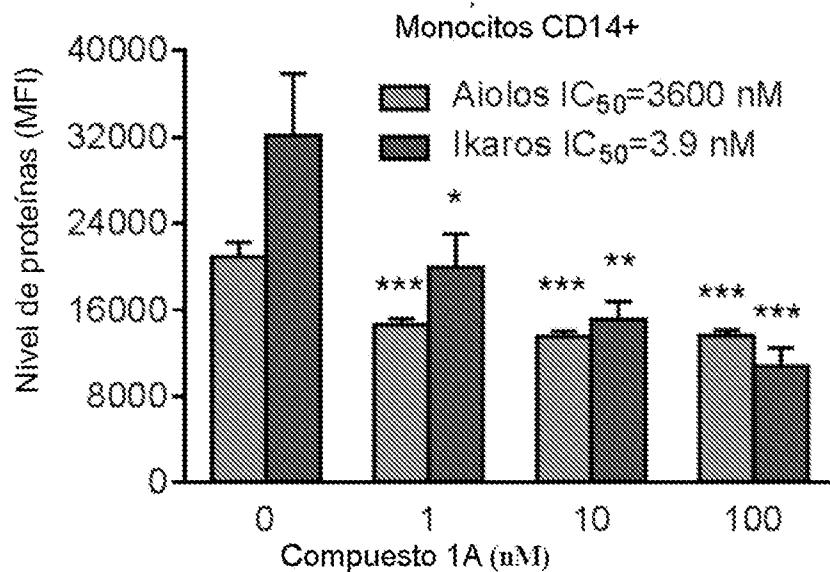


FIG. 3C

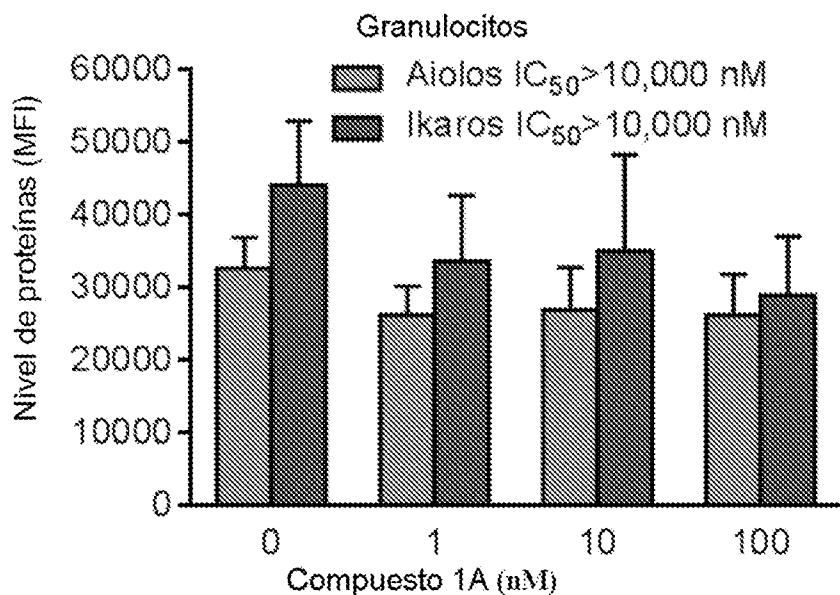


FIG. 3D

* p<0.05; ** p<0.01; *** p<0.001 frente a control (N=3) ANOVA de una vía / prueba de comparación múltiple de Dunnett

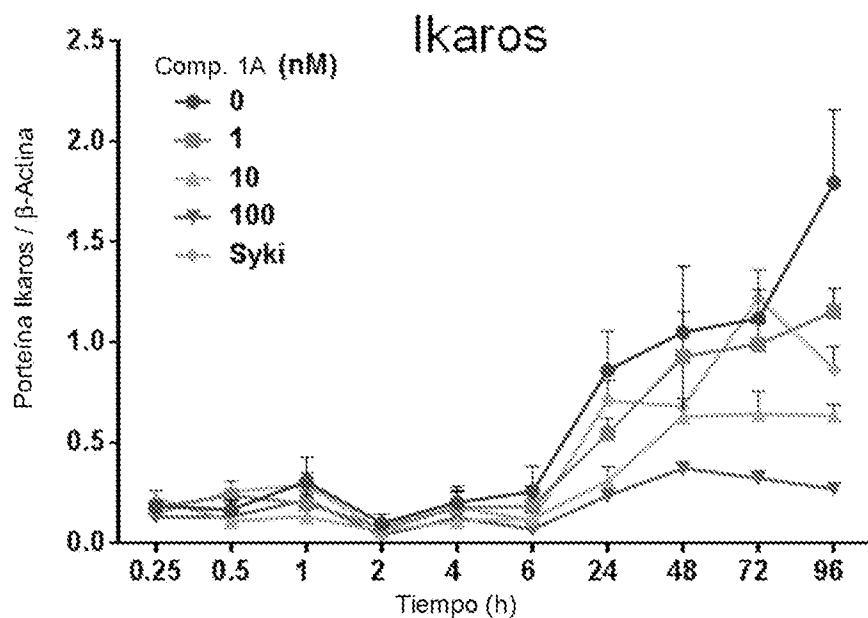


FIG. 4A

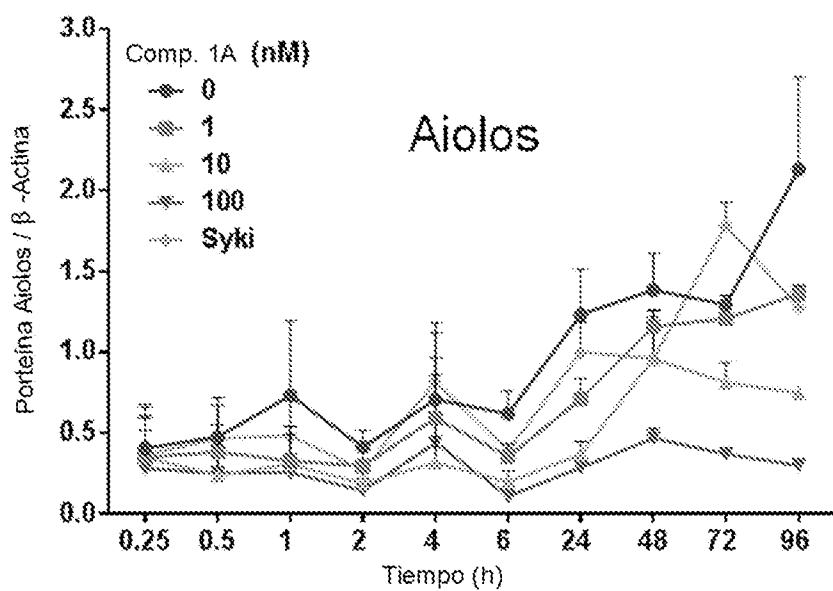


FIG. 4B

n = 3 donantes

ES 2 969 532 T3

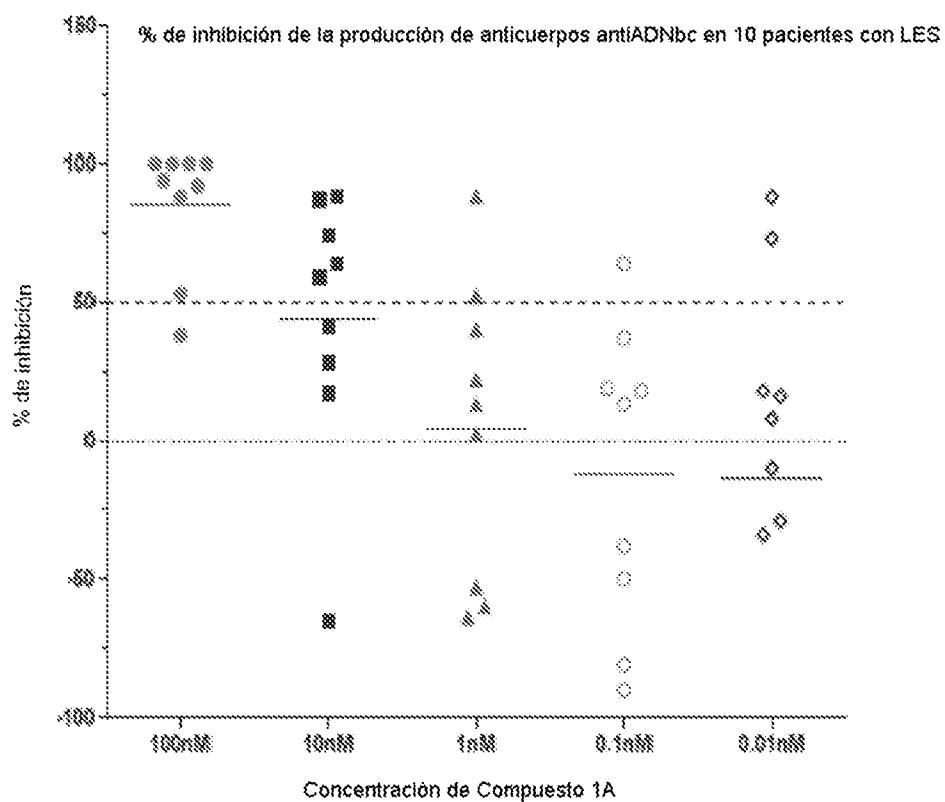


FIG. 5A

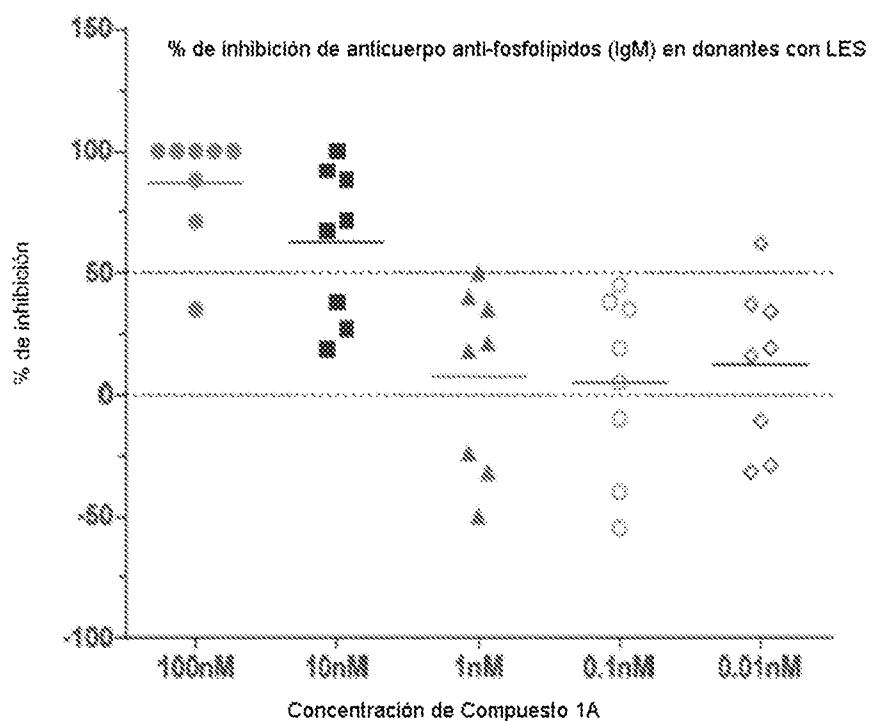


FIG. 5B

ES 2 969 532 T3

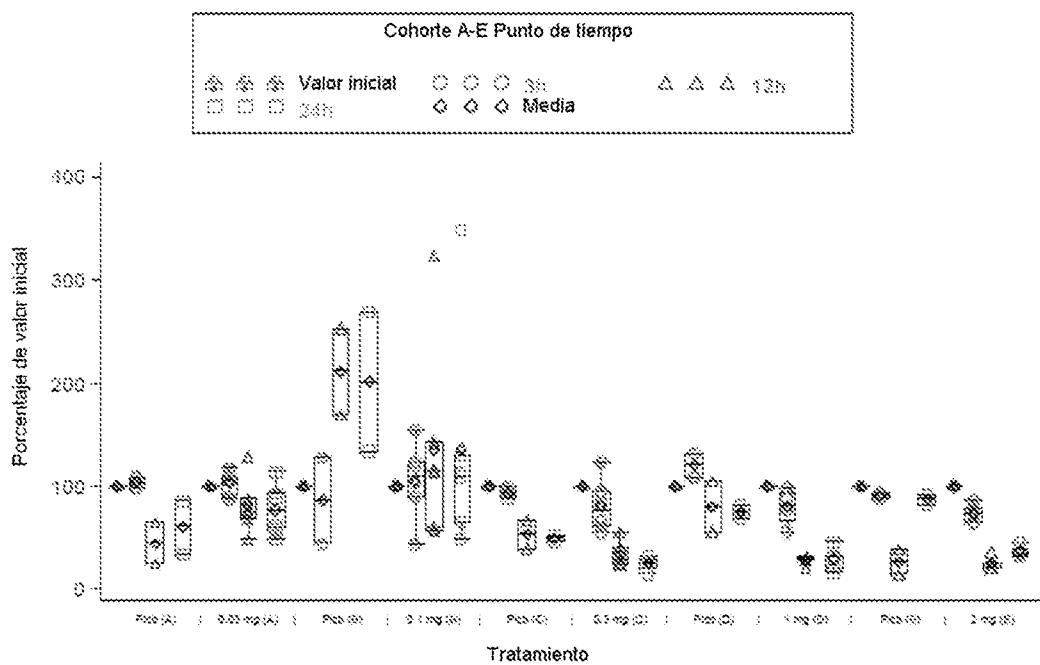


FIG. 6A

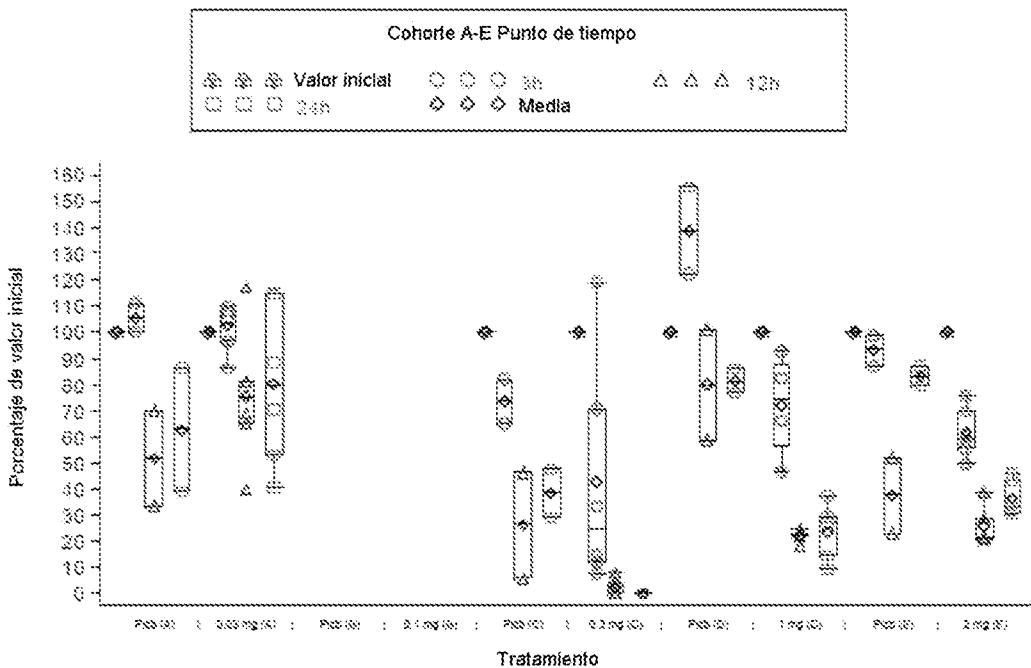


FIG. 6B

ES 2 969 532 T3

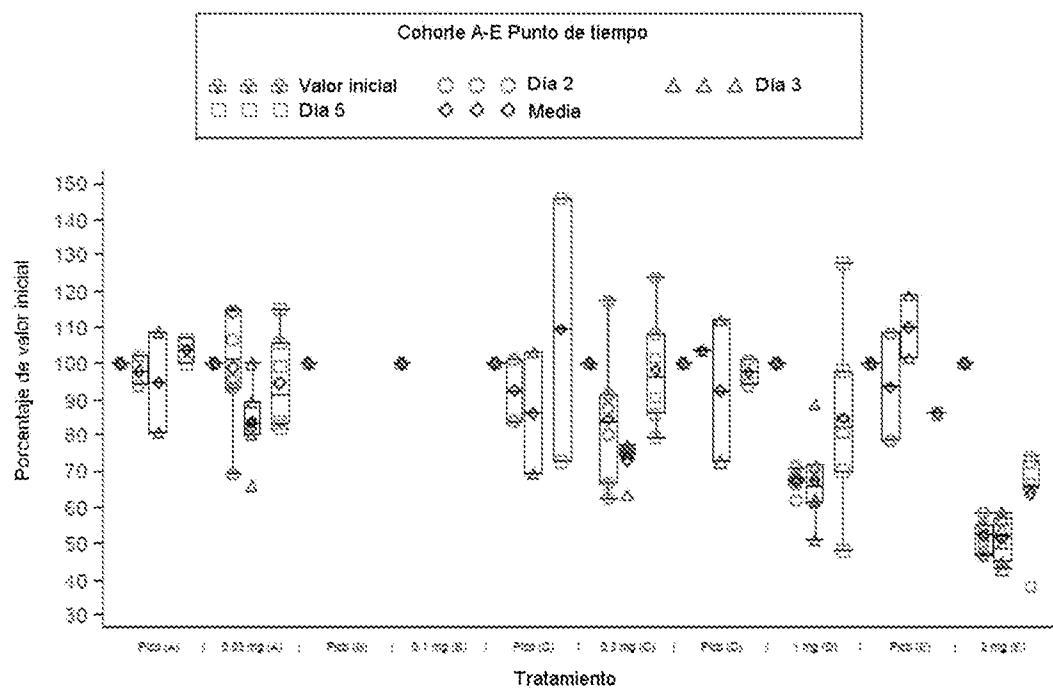


FIG. 7A

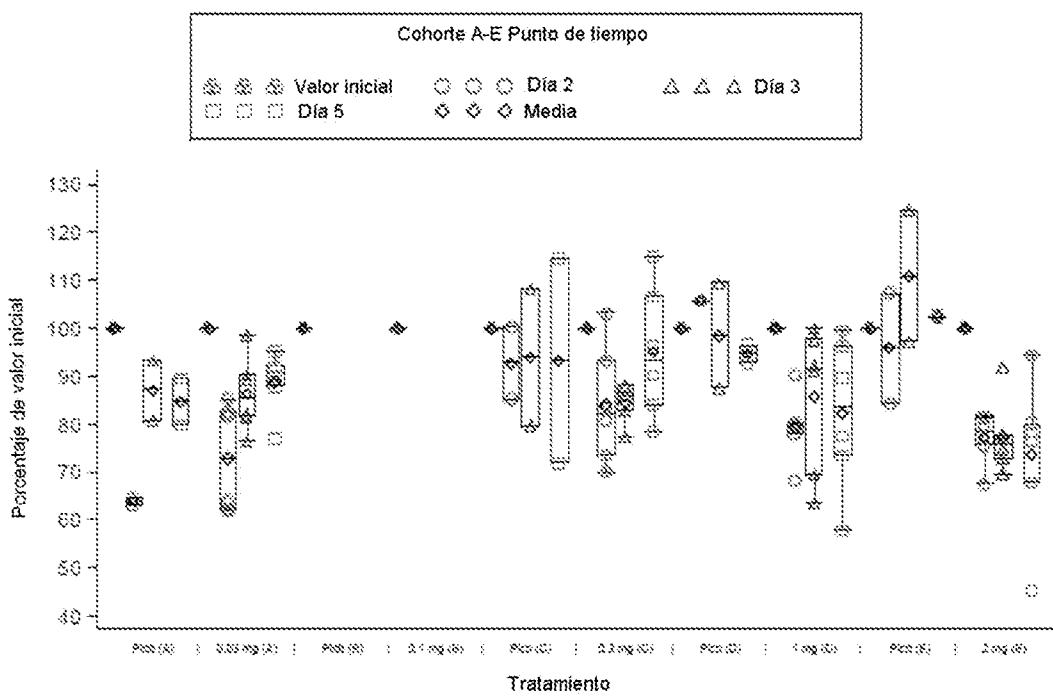


FIG. 7B

ES 2 969 532 T3

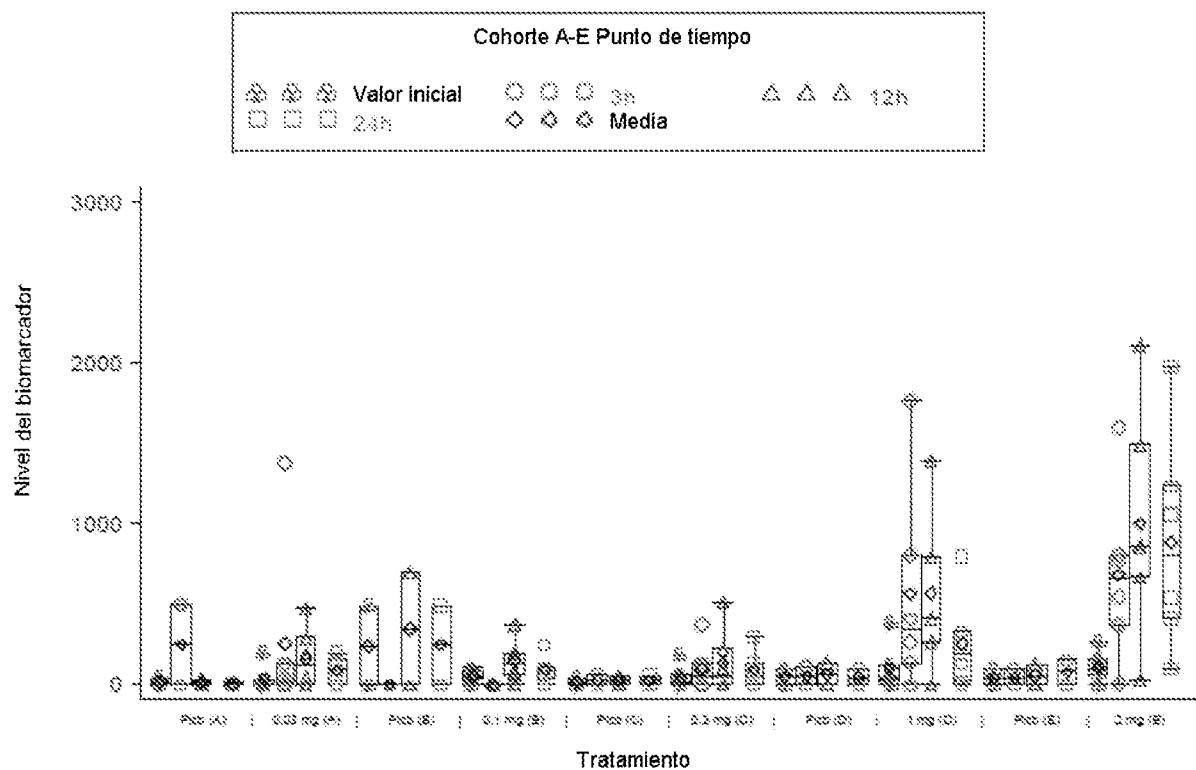


FIG. 8A

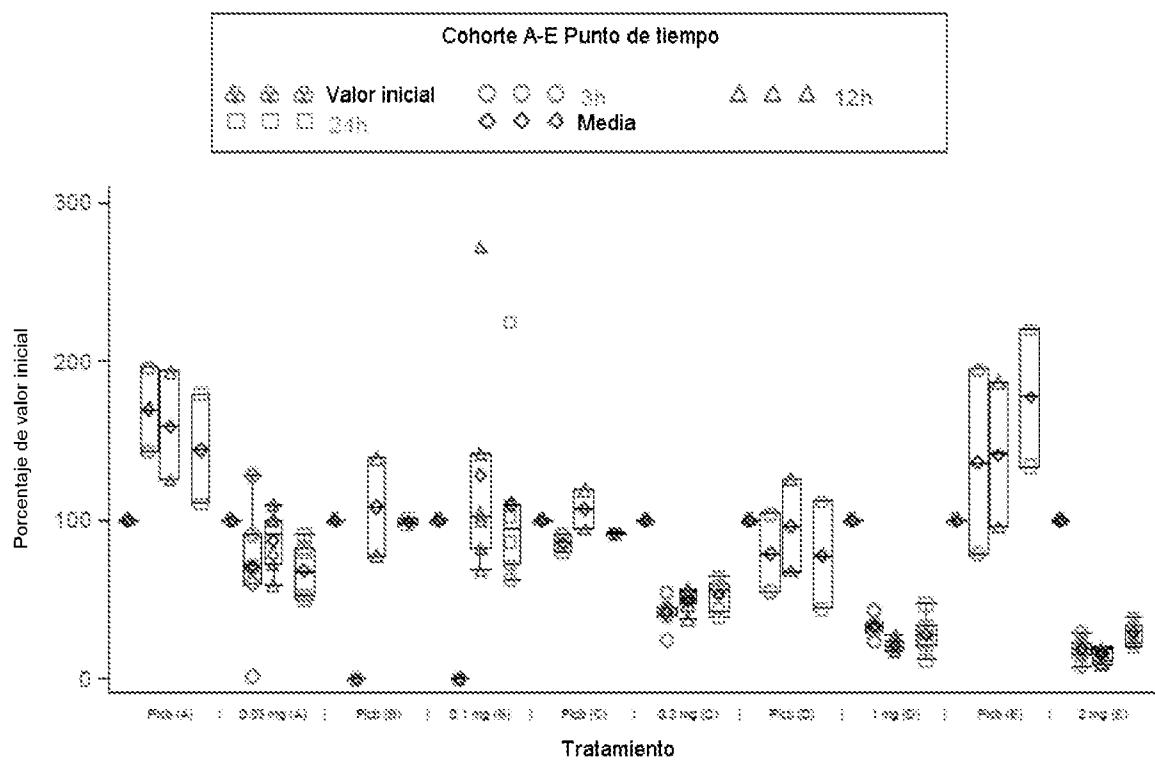


FIG. 8B