(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 969 209**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/33 (2006.01)
A61K 31/335 (2006.01)
A61K 36/55 (2006.01)
A61P 39/00 (2006.01)
A61K 31/7034 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.06.2017 PCT/US2017/035960**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **14.12.2017 WO17214039**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.06.2017 E 17810789 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.11.2023 EP 3463334**

(54) Título: **Composiciones y métodos para proteger órganos de lesiones por isquemia/reperfusión asociadas con el trasplante**

(30) Prioridad:

07.06.2016 US 201662347038 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.05.2024

(73) Titular/es:

THE TRUSTEES OF THE UNIVERSITY OF PENNSYLVANIA (100.0%)
3160 Chestnut Street
Philadelphia, PA 19104, US

(72) Inventor/es:

CHRISTOFIDOU-SOLOMIDOU, MELPO y
CANTU, EDWARD

(74) Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

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

Composiciones y métodos para proteger órganos de lesiones por isquemia/reperfusión asociadas con el trasplante

CAMPO DE LA INVENCIÓN

[0001] La invención se refiere a composiciones y métodos para proteger los pulmones de lesiones asociadas con el trasplante. Específicamente, la invención se refiere a un diglucósido de secoisolaricirecinol (SDG), que incluye SDG natural, SDG sintético (LGM2605), *(S,S)*-SDG, *(R,R)*-SDG y mezclas de los mismos, para proteger los pulmones de lesiones, tales como lesión por isquemia/reperfusión, asociada al trasplante.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

[0002] El trasplante de pulmón es una opción quirúrgica establecida e implica que un pulmón con enfermedad crónica avanzada se reemplaza con un pulmón donado sano, lo que implica un episodio de isquemia asociado con la interrupción del flujo sanguíneo durante la preservación y reperfusión del pulmón. La lesión por isquemia-reperfusión (IR) se conoce clínicamente como disfunción primaria del injerto (PGD) y es una de las principales causas de malos resultados de la cirugía de trasplante. Las respuestas de reparación de lesiones inflamatorias e inmunológicas parecen ser los mecanismos que impulsan la lesión por IR o DGP. Parte de la respuesta inflamatoria se manifiesta en forma de reclutamiento de neutrófilos polimorfonucleares (PMN) de la circulación del receptor y su adherencia y transmigración al pulmón trasplantado (donante). Parece que las señales que emanan de la capa endotelial de los vasos pulmonares impulsan el reclutamiento y la adherencia de los PMN a la pared del vaso, pero no está claro cómo y cuándo se inducen estas señales. La isquemia pulmonar (es decir, la parada del flujo en el pulmón) provoca la activación de una cascada de señalización de células endoteliales que conduce a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Con base en estas observaciones, se puede concluir con seguridad que la isquemia pulmonar asociada con el almacenamiento provoca la inducción de restos inflamatorios posiblemente a través de ROS.

[0003] La inflamación es un proceso complejo regulado por numerosos mediadores proinflamatorios, como los patrones moleculares asociados al daño (DAMP) y sus receptores (receptores de reconocimiento de patrones [PRR]). El aumento del cuadro 1 del grupo de alta movilidad de la proteína DAMP (HMGB1) y el aumento de la expresión de su PRR, receptor de productos finales de glicación avanzada (RAGE), son fundamentales en el inicio y la amplificación de la inflamación y se han implicado en numerosas patologías inflamatorias, incluidas IR y endotoxemia. Este eje HMGB 1-RAGE es parte de una respuesta coordinada que las células utilizan para desencadenar cascadas inflamatorias mediante la activación de inflamasomas. Los inflamasomas (complejos proteicos multiméricos formados en respuesta a una infección o daño tisular) proporcionan una instantánea integrada del estado inflamatorio de un órgano completo. Los inflamasomas son fundamentales en la amplificación de la inflamación porque desencadenan la producción de citocinas y quimiocinas que, a su vez, aumentan la expresión de moléculas de adhesión, provocando una mayor adherencia de PMN y otras células inmunitarias al endotelio.

[0004] Por consiguiente, existe una necesidad de métodos y composiciones para proteger los pulmones de los donantes de lesiones asociadas con el trasplante.

[0005] El documento WO 2008/147563 describe métodos y composiciones para tratar afecciones pulmonares patológicas utilizando linaza integral o lignanos de linaza aislados en forma del precursor de lignanos secoisolariciresinol diglucósido (SDG) directamente de la linaza integral.

[0006] El documento US 2011/0300247 describe composiciones y métodos para tratar afecciones pulmonares patológicas utilizando linaza integral o lignanos de linaza.

[0007] CA 2950744 describe composiciones y métodos para radioprotección y quimioprevención usando (S,S)-SDG, (R,R)-SDG, (S,R)-SDG, (R,S)-SDG, SDG y moléculas relacionadas.

[0008] Hijiya et al. (J. Heat. Lung Transplant., 2016, 4, S177, DOI: 10.1016/j.healun.2016.01.491, XP029507613) describen el reacondicionamiento de pulmones isquémicos calientes prolongados mediante inhalación de broncodilatadores en dosis altas durante la perfusión pulmonar ex vivo en un Modelo de trasplante de pulmón canino.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

[0009] La presente invención proporciona un método para proteger o preservar un pulmón para trasplante, para preparar un pulmón para trasplante, para extender la vida de un pulmón donado antes del trasplante, o para disminuir la probabilidad de rechazo del injerto de un pulmón donado para trasplante en un paciente humano, comprendiendo el método administrar al pulmón una composición que comprende una cantidad eficaz de diglucósido de secoisolaricirecinol (SDG), incluyendo SDG natural, SDG sintético (LGM2605), (S,S)-SDG, (R,R)-SDG y mezclas del mismo, en donde la composición se administra durante la perfusión pulmonar *ex vivo* (EVLP).

[0010] En una forma de realización, el SDG es *(S,S)*-SDG. En otra forma de realización, el SDG es *(R,R)*-SDG.

[0011] En una forma de realización, el SDG es un SDG sintético (LGM2605).

[0012] En una forma de realización, la composición se administra con un nebulizador.

[0013] En una forma de realización, la composición se administra en forma de aerosol.

[0014] En una forma de realización, el SDG se administra como una solución salina.

[0015] En una forma de realización, el SDG se administra en una concentración en un rango de nanomolar (nM) a milimolar (mM).

[0016] En una forma de realización, el pulmón es un pulmón humano.

[0017] La presente invención también proporciona un método para disminuir la probabilidad de disfunción primaria del injerto (PGD) asociada con el trasplante de pulmón en un paciente humano, o para disminuir la probabilidad de complicaciones del trasplante de pulmón en un paciente humano, comprendiendo el método administrar *ex vivo* al pulmón antes de ser trasplantado una composición que comprende una cantidad eficaz de diglucósido de secoisolaricirecinol (SDG), incluyendo SDG natural, SDG sintético (LGM2605), (S,S)-SDG, (R,R)-SDG y mezclas de los mismos.

[0018] En una forma de realización, la complicación es la bronquiolitis obliterante.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0019] La invención se entenderá mejor a partir de la lectura de la siguiente descripción detallada tomada junto con los dibujos:

Figura 1: Sistema modelo de perfusión pulmonar *ex vivo* (EVLP) (A) en pulmones de donantes humanos (B).

Figura 2: LGM2605 administrado mediante nebulizador a pulmones de donantes humanos en un sistema EVLP se puede detectar en BALF, perfusión y tejido pulmonar mediante CL/EM/EM durante varias horas.

Figura 3: Mediciones hemodinámicas en pulmones humanos EVLP. LGM2605 administrado mediante nebulizador a pulmones de donantes humanos en un sistema EVLP mejora la oxigenación (relación P/F) (Figura 3A), la distensibilidad estática (Figura 3B) y la distensibilidad dinámica (Figura 3C).

Figura 4: Mediciones hemodinámicas en pulmones humanos EVLP utilizando LGM2605 (SDG) en aerosol: diseño del estudio.

Figura 5: El nivel de expresión génica de la enzima HO-1 de respuesta al estrés regulada por NRF2 disminuye en tejidos de pulmón humano (EVLP) tratados con LGM2605 en aerosol. El tiempo "0" es el momento de la administración en aerosol de LGM2605.

Figura 6: Los niveles de expresión génica de las enzimas antioxidantes reguladas por NRF2 NQO1 y GSTM1 aumentan en tejidos de pulmón humano (EVLP) tratados con LGM2605. El tiempo "0" es el momento de la administración en aerosol de SDG.

Figura 7: Los niveles de expresión génica de las citoquinas proinflamatorias IL1-β e IL-6 disminuyen en tejidos de pulmón humano (EVLP) tratados con LGM2605.

Figura 8: Disminución de los niveles de expresión genética de COX-2 (una enzima que promueve la inflamación y el dolor) en tejidos de pulmón humano (EVLP) tratados con LGM2605.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

[0020] La presente invención proporciona un método para proteger o preservar un pulmón para trasplante, para preparar un pulmón para trasplante, para extender la vida de un pulmón donado antes del trasplante, o para disminuir la probabilidad de rechazo del injerto de un pulmón donado para trasplante en un paciente humano, comprendiendo el método la administración al pulmón de una composición que comprende una cantidad eficaz de diglucósido de secoisolaricirecinol (SDG), incluyendo SDG natural, SDG sintético (LGM2605), *(S,S)-SDG*, *(R,R)*-SDG y mezclas de los mismos, en donde la composición se administra durante la perfusión pulmonar *ex vivo* (EVLP).

[0021] La presente invención proporciona además un método para disminuir la probabilidad de disfunción primaria del injerto (PGD) asociada con el trasplante de pulmón en un paciente humano, o para disminuir la probabilidad de complicaciones del trasplante de pulmón en un paciente humano, comprendiendo el método administrar *ex vivo* al pulmón

antes de trasplantarlo una composición que comprende una cantidad eficaz de diglucósido de secoisolaricirecinol (SDG), incluyendo SDG natural, SDG sintético (LGM2605), *(S,S)*-SDG, *(R,R)*-SDG y mezclas de los mismos.

[0022] Sorprendente e inesperadamente, los inventores de esta solicitud encontraron que SDG, incluyendo SDG natural, SDG sintético (LGM2605), *(S,S)*-SDG, *(R,R)*-SDG y mezclas de los mismos, es un potente eliminador de ROS y, por lo tanto, puede usarse para prevenir lesiones por isquemia/reperfusión (IR) asociadas con el trasplante de pulmón *ex vivo.* Los inventores han demostrado que el SDG, incluido el SDG natural, el SDG sintético (LGM2605), *(S,S)*-SDG, *(R,R)*-SDG y mezclas de los mismos, tiene potentes propiedades antiinflamatorias y bloqueadoras del inflamasoma y, como resultado, se descubrió que se puede utilizar para bloquear las lesiones por infrarrojos. Los inventores también proporcionan evidencia de que SDG, incluyendo SDG natural, SDG sintético (LGM2605), *(S,S)*-SDG, *(R,R)*-SDG y mezclas de los mismos, se pueden usar para extender el período de conservación pulmonar, para mejorar la condición de los órganos, para disminuir la probabilidad de rechazo del injerto y para tratar la bronquiolitis obliterante (BO) *ex vivo.*

[0023] SDG es un fitoestrógeno antioxidante presente en las semillas de lino, girasol, sésamo y calabaza. En la alimentación se puede encontrar en panes comerciales que contienen linaza. La linaza, sus ingredientes bioactivos y sus metabolitos se conocen en la técnica y se describen en las publicaciones de patentes de EE. UU. N^{os} 2010/0239696; 2011/0300247; y 2014/0308379; y en la publicación de patente internacional nº WO2014/200964.

[0024] El lignano primario que se encuentra en la semilla de lino es el 2,3-bis (3-metoxi-4-hidroxibencil)butano-1,4-diol (secoisolariciresinol o SECO), que se almacena como el conjugado secoisolariciresinol diglucósido (SDG) en su estado nativo en la planta. El SDG se metaboliza en el intestino humano a enterodiol (ED) y enterolactona (EL). Se conocen en la técnica análogos sintéticos de enterodiol y enterolactona (*véase, p. ej.,* Eklund et al., Org. Lett., 2003, 5:491).

[0025] Las técnicas para extraer y purificar SDG son conocidas en la técnica y se describen en la Patente de EE. UU. 5.705.618. Las técnicas para sintetizar SDG, sus estereoisómeros y análogos se describen en Mishra OP, et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2013, (19):5325-5328 y en la publicación de patente internacional nº WO2014/200964. El SDG sintético también se denomina en este documento LGM2605.

[0026] El término "análogo", como se usa en el presente documento, puede referirse a un compuesto cuya estructura está relacionada con la de otro compuesto. El análogo puede ser un análogo sintético.

[0027] Los términos "ingrediente" o "componente", tal como se usan en el presente documento, pueden referirse a un elemento o constituyente en una mezcla o compuesto.

[0028] "Composición farmacéutica" se refiere a una cantidad eficaz de un ingrediente activo, *p. ej., (S,S)-SDG*, *(R,R)*-SDG, *meso*-SDG y SDG, junto con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. Una "cantidad eficaz" se refiere a esa cantidad que proporciona un efecto para una afección y un régimen de administración determinados.

[0029] Las composiciones descritas en el presente documento pueden incluir una "cantidad eficaz". Una "cantidad efectiva" se refiere a una cantidad efectiva, en cantidades y durante períodos de tiempo necesarios, para lograr el resultado deseado. Una cantidad eficaz puede variar según factores tales como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo u órgano, y la capacidad de la composición para provocar una respuesta deseada en el individuo u órgano. Una cantidad eficaz es también aquella en la que los efectos tóxicos o perjudiciales de la molécula son superados por los efectos beneficiosos.

[0030] En un aspecto, en el presente documento se proporcionan métodos para extender la vida de un pulmón donado antes del trasplante en un sujeto, comprendiendo los métodos: administrar al pulmón donante una composición que comprende una cantidad eficaz de diglucósido de secoisolaricirecinol (SDG), un estereoisómero del mismo, o una combinación de los mismos, en donde la composición se administra durante la perfusión pulmonar *ex vivo* (EVLP).

[0031] En otro aspecto, se proporcionan en el presente documento métodos para proteger o preservar un pulmón de donante para trasplante, comprendiendo los métodos: administrar al pulmón de donante una composición que comprende una cantidad eficaz de diglucósido de secoisolaricirecinol (SDG), un estereoisómero del mismo, o una combinación de los mismos, en el que la composición se administra durante la perfusión pulmonar *ex vivo* (EVLP).

[0032] En otro aspecto, se proporcionan en el presente documento métodos para preparar un pulmón de donante para trasplante, comprendiendo los métodos: administrar al pulmón de donante una composición que comprende una cantidad eficaz de diglucósido de secoisolaricirecinol (SDG), incluyendo SDG natural, SDG sintético (LGM2605), (S,S)-SDG, (R,R)-SDG y mezclas de los mismos, en donde la composición se administra durante la perfusión pulmonar *ex vivo* (EVLP).

[0033] En otro aspecto, se proporcionan en el presente documento métodos para disminuir la probabilidad de rechazo del injerto de un pulmón donado para trasplante en un paciente humano, comprendiendo los métodos: administrar al pulmón una composición que comprende una cantidad eficaz de diglucósido de secoisolaricirecinol (SDG), incluido SDG natural, SDG sintético (LGM2605), *(S,S)*-SDG, *(R,R)*-SDG y mezclas de los mismos, en donde la composición se administra durante la perfusión pulmonar *ex vivo* (EVLP).

[0034] En otro aspecto, se proporcionan en el presente documento métodos para disminuir la probabilidad de disfunción primaria del injerto (PGD) asociada con el trasplante de pulmón en un paciente humano, comprendiendo los métodos: administrar *ex vivo* al pulmón antes de trasplantarlo al paciente una composición que comprende un agente eficaz cantidad de diglucósido de secoisolaricirecinol (SDG), incluyendo SDG natural, SDG sintético (LGM2605), *(S,S)*-SDG, *(R,R)*-SDG y mezclas de los mismos.

[0035] En otro aspecto, se proporcionan en el presente documento métodos para disminuir la probabilidad de complicaciones del trasplante de pulmón, tales como bronquiolitis obliterante, en un paciente humano, los métodos comprenden: administrar *ex vivo* al pulmón antes de trasplantarlo una composición que comprende una cantidad eficaz de diglucósido de secoisolaricirecinol (SDG), incluyendo SDG natural, SDG sintético (LGM2605), *(S,S)*-SDG, *(R,R)*-SDG y mezclas de los mismos.

[0036] En otro aspecto, las composiciones comprenden una cantidad eficaz de un diglucósido de secoisolaricirecinol (SDG), que incluye SDG natural, SDG sintético (LGM2605), (S,S)-SDG, (R,R)-SDG y mezclas de los mismos. En algunas formas de realización, las composiciones se formulan para administrarse *ex vivo* a un pulmón de donante para trasplante en una cantidad eficaz para prolongar la vida del pulmón de donante antes del trasplante en un sujeto. En algunas formas de realización, las composiciones se formulan para administrarse *ex vivo* a un pulmón de donante para trasplante en una cantidad eficaz para proteger, preparar o preservar el pulmón de donante para trasplante. En algunas formas de realización, las composiciones se formulan para administrarse *ex vivo* a un pulmón de donante para trasplante en una cantidad eficaz para disminuir la probabilidad de disfunción del injerto primario (PGD) del injerto o rechazo del pulmón del donante en un paciente humano. En algunas formas de realización, las composiciones se formulan para administrarse *ex vivo* a un pulmón de un donante para trasplante en una cantidad eficaz para disminuir la probabilidad de complicaciones del trasplante de pulmón, tales como bronquiolitis obliterante, en un paciente humano.

[0037] En un ejemplo, una cantidad eficaz oscila entre aproximadamente 1 nanomolar (nM) y aproximadamente 1 molar (M). En otro ejemplo, una cantidad eficaz oscila entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 1 mM. En otro ejemplo, una cantidad eficaz está en el rango de nanomolar a milimolar. En otro ejemplo más, una cantidad eficaz oscila entre aproximadamente 1 nM y aproximadamente 1 mM.

[0038] Tal como se utiliza en el presente documento, la frase "farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones, vehículos y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable.

[0039] "Excipiente farmacéuticamente aceptable" significa un excipiente que es útil para preparar una composición farmacéutica que es generalmente segura, no tóxica y no biológicamente ni de otro modo indeseable, e incluye un excipiente que es aceptable para uso veterinario así como para uso farmacéutico humano. Un "excipiente farmacéuticamente aceptable", tal como se utiliza en el presente documento, incluye uno y más de uno de dichos excipientes.

[0040] Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar a un sujeto mediante cualquier método adecuado conocido por un experto en la técnica, tal como por vía oral, parenteral, por vía transmucosa, transdérmica, intramuscular, intravenosa, intradérmica, subcutánea, intraperitoneal, intraventricular, intracraneal, intravaginal, intratumoral o bucal. También se puede utilizar la liberación controlada incorporando el ingrediente activo en un polímero apropiado que luego se puede insertar por vía subcutánea, intratumoral, bucal, como un parche sobre la piel o por vía vaginal. También se cubre el recubrimiento de un dispositivo médico con el ingrediente activo.

[0041] En algunas formas de realización, las composiciones farmacéuticas se formulan en una forma adecuada para la administración como una preparación líquida o sólida. Las formulaciones líquidas adecuadas incluyen aerosoles, soluciones, suspensiones, dispersiones, emulsiones, aceites y similares. Las formulaciones sólidas adecuadas incluyen tabletas, cápsulas, píldoras, gránulos, bolitas y similares. En algunas formas de realización, las composiciones farmacéuticas se administran mediante inyección intravenosa de una preparación líquida. En algunas formas de realización, las composiciones farmacéuticas se administran por vía intravenosa y, por tanto, se formulan en una forma adecuada para la administración intravenosa.

[0042] En un ejemplo, las composiciones farmacéuticas proporcionadas en el presente documento son composiciones de liberación controlada, es decir, composiciones en las que el ingrediente bioactivo se libera durante un período de tiempo después de la administración. Las composiciones de liberación controlada o sostenida incluyen formulaciones en depósitos lipófilos (p. ej., ácidos grasos, ceras, aceites). En otro ejemplo, la composición es una composición de liberación inmediata, es decir, una composición en la que todo el ingrediente bioactivo se libera inmediatamente después de la administración.

[0043] En algunas formas de realización, las composiciones para usar en los métodos proporcionados en el presente documento se administran una vez al día. En algunas formas de realización, las composiciones se administran una vez cada dos días, dos veces por semana, una vez por semana o una vez cada dos semanas.

[0044] Los SDG naturales, los SDG sintéticos (LGM2605), (S,S)-SDG, (R,R)-SDG, (S,R)-SDG, (R,S)-SDG y *meso*-SDG se pueden administrar a una dosis de 0,1 ng/kg a 500 mg/kg.

[0045] El tratamiento con SDG natural, SDG sintético (LGM2605), (S,S)-SDG, (R,R)-SDG, (S,R)-SDG, (R,S)-SDG o *meso*-SDG puede variar desde una sola administración hasta varios días, meses, años o de forma indefinida.

[0046] Como se usa en el presente documento, "tratar" puede referirse a un tratamiento terapéutico o a medidas profilácticas o preventivas, en las que el objeto es prevenir o disminuir la afección o trastorno patológico objetivo como se describe en el presente documento, o ambos.

[0047] Además, como se usan en el presente documento, los términos "tratar" y "tratamiento" se refieren a un tratamiento terapéutico, así como a medidas profilácticas o preventivas, en las que el objeto es prevenir o ralentizar (disminuir) un cambio fisiológico no deseado asociado con una enfermedad o afección. Los resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyen alivio de los síntomas, disminución de la extensión de una enfermedad o condición, estabilización de una enfermedad o condición (es decir, donde la enfermedad o condición no empeora), retraso o desaceleración de la progresión de una enfermedad o condición, mejora o paliación de la enfermedad o condición, y remisión (ya sea parcial o total) de la enfermedad o condición, ya sea detectable o indetectable. "Tratamiento" también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento.

[0048] En algunas formas de realización, los sujetos que necesitan tratamiento y los métodos y composiciones descritos en el presente documento pueden incluir sujetos con enfermedades y trastornos pulmonares, tales como asma, cáncer, EPOC y mesotelioma. En una forma de realización ejemplar, el sujeto es un paciente que necesita un trasplante de pulmón. En otra forma de realización ejemplar, el sujeto es un paciente que está esperando un trasplante de pulmón. En otra forma de realización ejemplar, el sujeto es un paciente que espera recibir un trasplante de pulmón.

[0049] El término "sujeto" incluye mamíferos, por ejemplo, humanos, animales de compañía (p. ej., perros, gatos, pájaros y similares), animales de granja (p. ej., vacas, ovejas, cerdos, caballos, aves y similares) y animales de laboratorio (p. ej., ratas, ratones, cobayas, pájaros y similares). Además de humanos, el sujeto puede incluir perros, gatos, cerdos, vacas, ovejas, cabras, caballos, búfalos, avestruces, cobayas, ratas, ratones, pájaros (p. ej., periquitos) y otros animales salvajes, domesticados o comercialmente útiles. (p. ej., pollo, gansos, pavos, pescado). El término "sujeto" no excluye a un individuo que es normal en todos los aspectos. El término "sujeto" incluye un ser humano que necesita terapia para, o es susceptible a una condición o sus secuelas.

[0050] El término "aproximadamente" o "alrededor de" significa dentro de un rango de error aceptable para el valor particular determinado por un experto en la técnica, que dependerá en parte de cómo se mide o determina el valor, es decir, las limitaciones del sistema de medida.

[0051] Los siguientes ejemplos se presentan para ilustrar más completamente las formas de realización preferidas de la invención.

EJEMPLOS

SDG PROTEGE LOS PULMONES DE LESIONES POR ISQUEMIA/REPERFUSIÓN ASOCIADA AL TRASPLANTE

[0052] El trasplante de pulmón ha avanzado considerablemente en los últimos veinte años, con una duplicación de las tasas de supervivencia para determinadas indicaciones, como la fibrosis quística. Estas mejoras alientan a los médicos a proponer un trasplante de pulmón temprano a sus pacientes. A diferencia de otros órganos, como los riñones o el hígado, los pulmones sólo se extraen en el 20 % de los donantes con muerte cerebral, debido a criterios muy estrictos de aceptación de injertos de pulmón para un posible trasplante. Esta severa selección está motivada por las altas tasas de mortalidad después del trasplante de pulmón, que se mantuvieron en torno al 50 % durante los primeros cinco años. Se han implementado varias estrategias para intentar aumentar el número de injertos de pulmón disponibles. La obtención de órganos de donantes vivos sigue siendo anecdótica. Ciertos equipos trasplantan pulmones con criterios ampliados a pesar de que estos pulmones habían sido rechazados al principio debido a anomalías en las radiografías de tórax, edad >70 años, mala oxigenación o aspiración sin procedimientos de evaluación *ex vivo*. En muchos casos, esta situación no ha tenido ningún efecto perjudicial aparente sobre el resultado postrasplante. Sin embargo, existe cierta evidencia de que la ampliación de la aceptabilidad del donante en algunos aspectos conduce a peores resultados tempranos, principalmente al aumentar la tasa de disfunción temprana del injerto.

[0053] La perfusión de pulmones *ex vivo* (EVLP) evalúa estos pulmones "marginales" fuera del cuerpo, permitiendo así una evaluación más objetiva y reproducible de estos órganos. Más allá de la evaluación *ex vivo*, EVLP puede prolongar el período de preservación pulmonar durante hasta 12 h. Investigaciones prometedoras han sugerido que la protección o reparación de los injertos lesionados podría realizarse durante la EVLP mediante la administración de terapias durante el procedimiento. Proporcionamos evidencia de que LGM2605 (SDG) puede servir como tal terapia y, por lo tanto, puede ser útil para extender el período de preservación pulmonar y mejorar la condición del órgano, disminuyendo la probabilidad de rechazo del injerto y otras complicaciones crónicas como la bronquiolitis obliterante (BO).

DISEÑO DEL ESTUDIO DE PERFUSIÓN DEL INJERTO DE PULMÓN *EX VIVO*

[0054] Se ofrecieron pulmones de donantes a nuestro programa de trasplante de pulmones a través de nuestra organización local de obtención de órganos (Gift of Life) y no se identificaron. Se recuperaron los pulmones de donantes que cumplían con los criterios de ingreso (es decir, no trasplantables), se entregaron a nuestro centro mediante un transporte estándar de almacenamiento en frío en una solución de dextrano baja en potasio (Perfadex, Vitrolife) y se perfundieron en el sistema EVLP durante 3-6 horas. Los pulmones se consideraron aptos para el trasplante si durante la EVLP la relación PO_2:FIO_2, es decir, la presión parcial de oxígeno *ex vivo* (PO_2) a la fracción de oxígeno inspirado (FIO_2), era de 350 mm Hg o más y si había deterioro de los niveles iniciales de las tres mediciones fisiológicas (resistencia vascular pulmonar, distensibilidad dinámica y presión inspiratoria máxima) fue inferior al 15 % mientras los pulmones estaban ventilados con el uso de un volumen corriente de 7 ml por kilogramo de peso corporal del donante y una frecuencia de 7 respiraciones. por minuto durante el período de perfusión **(Figura 1)**

[0055] **Técnica:** La técnica EVLP acelular se ha descrito en detalle en otro lugar (Cypel et al., N Engl J Med. 14 de abril de 2011; 364(15):1431-40). Después de 3 a 6 horas de EVLP, los pulmones se enfriaron a 4°C durante un período de 10 minutos. A partir de entonces, se detuvieron la perfusión y la ventilación (con la FIO_2 cambiada a 0,21 con el fin de almacenarla en los pulmones) y se sujetó la tráquea en plena inspiración para mantener los pulmones en un estado de inflación. A continuación, los pulmones se almacenaron a 4°C en Perfadex hasta el trasplante.

[0056] **Evaluación funcional *ex vivo*:** Para la evaluación funcional *ex vivo,* el volumen corriente se fijó en 10 ml por kilogramo de peso corporal del donante y 10 respiraciones por minuto, con FIO_2 en 1,0. La función pulmonar se evaluó cada hora durante EVLP de acuerdo con los siguientes cálculos: PO_2 = [PO_2 de la aurícula izquierda-PO_2 de la arteria pulmonar (en mm Hg)] y resistencia vascular pulmonar = [(presión de la arteria pulmonar-presión de la aurícula izquierda) x 80] ÷ flujo de la arteria pulmonar (en dinas·segundos·cm^{-5}), distensibilidad dinámica (en mililitros por centímetro de agua) y presión inspiratoria máxima (en centímetros de agua). La broncoscopia flexible se realizó al inicio del estudio, a las 3 horas y a las 6 horas de EVLP.

[0057] **LGM2605 (SDG) SE ACUMULA EN TEJIDOS PULMONARES HUMANOS:** Utilizando metodologías analíticas CL/EM/EM, determinamos niveles sintéticos de SDG (LGM2605) en tejidos pulmonares izquierdo y derecho, en líquido de lavado broncoalveolar (BALF) y líquido de perfusión en múltiples puntos de tiempo que abarcan desde 30 minutos después de la instilación en aerosol de 200 mg de fármaco/pulmón, hasta 360 minutos **(Figura 2).** Es importante que el SDG en aerosol (LGM2605) (es decir, instilado en las vías respiratorias) se filtre a la circulación sistémica y pueda detectarse en la perfusión durante al menos 240 minutos. Es importante destacar que los niveles en las biopsias de tejido pulmonar muestran un pico de fármaco a los 120 minutos, que persiste hasta por 240 minutos. Además, los niveles de BALF persisten más allá de los 360 min. Independientemente de la vía de administración (inhalada o intravenosa), el SDG (LGM2605) se acumula en el pulmón.

[0058] **LGM2605 (SDG) MEJORA LA OXIGENACIÓN Y EL CUMPLIMIENTO PULMONAR:** El medicamento en aerosol (SDG (LGM2605)) del mismo pulmón que el anterior (EVLP#3) mejoró la relación P/F de 200 a >350 **(Figura 3, primer panel),** al tiempo que mejora el cumplimiento dinámico **(medio)** y estático **(último panel).** Por tanto, SDG ha mejorado las mediciones hemodinámicas pulmonares a los pocos minutos de la instilación en los pulmones de EVLP.

[0059] **NIVEL DE EXPRESIÓN GENÉTICA DE LA ENZIMA HO-1 DE RESPUESTA AL ESTRÉS REGULADA POR NRF2:** En un estudio separado (EVLP#4), se instiló SDG (LGM2605) solo en un pulmón (derecho) mientras que el control del vehículo se instiló en el pulmón contralateral **(Figura 4).** La concentración del fármaco (200 mg/pulmón) se mantuvo igual que antes. El análisis de la cinética de los cambios en la expresión genética en los tejidos pulmonares de EVLP mediante RT-PCR cuantitativa (qRTPCR) reveló una caída en la hemeoxigenasa-1 (HO-1), un gen de respuesta al estrés, en el pulmón asociado con SDG (LGM2605) instilado. en ese pulmón **(Figura 5).** Una caída en el pulmón izquierdo puede reflejar la acción de SDG (LGM2605) en ese pulmón a través del perfundido (hemos demostrado anteriormente que parte del fármaco aparece en la circulación sistémica).

[0060] **LOS NIVELES DE EXPRESIÓN GENÉTICA DE LAS ENZIMAS ANTIOXIDANTES REGULADAS POR NRF2 NQO1 Y GSTM1 AUMENTAN EN LOS TEJIDOS DEL PULMÓN HUMANO (EVLP) TRATADOS CON LGM2605 (SDG):** Nrf2 es un factor de transcripción que regula la expresión de genes antioxidantes y citoprotectores como NQO-1 y GSTMu1. Por lo tanto, evaluamos los niveles de expresión génica en tejidos pulmonares (EVLP#4) durante un tiempo de muestreo de 120 minutos. El análisis qRT-PCR reveló un fuerte aumento en la expresión de ambos genes en el pulmón tratado con SDG (LGM2605), pero no en el pulmón tratado con vehículo. Nuestros resultados confirman que SDG aumenta las defensas antioxidantes endógenas en los tejidos pulmonares humanos durante la isquemia **(Figura 6).**

[0061] **LOS NIVELES DE EXPRESIÓN GENÉTICA DE LAS CITOQUINAS PROINFLAMATORIAS IL1-b E IL-6 DISMINUYEN EN LOS TEJIDOS DEL PULMÓN HUMANO (EVLP) TRATADOS CON LGM2605 (SDG):** De manera similar a lo anterior, los niveles de expresión de citocinas proinflamatorias como IL-1β e IL-6 se redujeron significativamente en el pulmón derecho, tratado con SDG (LGM2605) en comparación con la maruca tratada con vehículo **(Figura 7).** Nuestros resultados confirman que SDG disminuye los parámetros inflamatorios en los tejidos pulmonares humanos durante la isquemia.

[0062] **DISMINUCIÓN DE LOS NIVELES DE EXPRESIÓN GENÉTICA DE LA COX-2 (ENZIMA QUE PROMUEVE LA INFLAMACIÓN Y EL DOLOR) EN LOS TEJIDOS DEL PULMÓN HUMANO (EVLP) TRATADOS CON LGM2605 (SDG):** La ciclooxigeneasa-2 es una enzima responsable de la formación de prostanoides como el tromboxano y las prostanglandinas.. La inhibición farmacológica de la COX puede aliviar los síntomas de inflamación y dolor. La instilación en aerosol de SDG (LGM2605) bloquea por completo la expresión de COX-2 en tejidos pulmonares de EVLP humanos dentro de los 50 minutos posteriores a la instilación. Una caída en el pulmón tratado con vehículo puede reflejar la acción del fármaco a través del perfundido (circulación sistémica - **Figura 8).**

[0063] **RESUMEN DE HALLAZGOS:** En conjunto, estos resultados muestran que SDG (LGM2605): se acumula en los tejidos pulmonares humanos durante la EVLP; mejora la hemodinámica del pulmón humano (relación P/F, cumplimiento dinámico y estático); disminuye el estrés oxidativo (HO1); Aumenta las defensas antioxidantes de los tejidos (NQO-1 y GSTMu1); Disminuye los marcadores inflamatorios (IL-1β e IL-6); Disminuye la expresión de COX-2.

REIVINDICACIONES

1. Un método para proteger o preservar un pulmón para trasplante, para preparar un pulmón para trasplante, para extender la vida de un pulmón donado antes del trasplante o para disminuir la probabilidad de rechazo del injerto de un pulmón donado para trasplante en un paciente humano, comprendiendo el método administrar al pulmón una composición que comprende una cantidad eficaz de diglucósido de secoisolaricirecinol (SDG), incluyendo SDG natural, SDG sintético (LGM2605), *(S,S)*-SDG, *(R,R)*-SDG y mezclas de los mismos, en donde la composición se administra durante la perfusión pulmonar *ex vivo* (EVLP).

2. El método de la reivindicación 1, en el que dicho SDG es *(S,S)*-SDG.

3. El método de la reivindicación 1, en el que dicho SDG es *(R,R)*-SDG.

4. El método de la reivindicación 1, en el que dicho SDG es un SDG sintético (LGM2605).

5. El método de la reivindicación 1, en el que la composición se administra con un nebulizador.

6. El método de la reivindicación 1, en el que la composición se administra en forma de aerosol.

7. El método de la reivindicación 1, en el que el SDG se administra como una solución salina.

8. El método de la reivindicación 1, en el que el SDG se administra en una concentración en un rango de nanomolar (nM) a milimolar (mM).

9. El método de la reivindicación 1, en el que el pulmón es un pulmón humano.

10. Un método para disminuir la probabilidad de disfunción primaria del injerto (PGD) asociada con el trasplante de pulmón en un paciente humano, o para disminuir la probabilidad de complicaciones del trasplante de pulmón en un paciente humano, comprendiendo el método la administración *ex vivo* al pulmón antes de que se trasplanta una composición que comprende una cantidad eficaz de diglucósido de secoisolaricirecinol (SDG), incluyendo SDG natural, SDG sintético (LGM2605), *(S,S)*-SDG, *(R,R)*-SDG y mezclas de los mismos.

11. El método de la reivindicación 10, en el que la complicación es bronquiolitis obliterante.

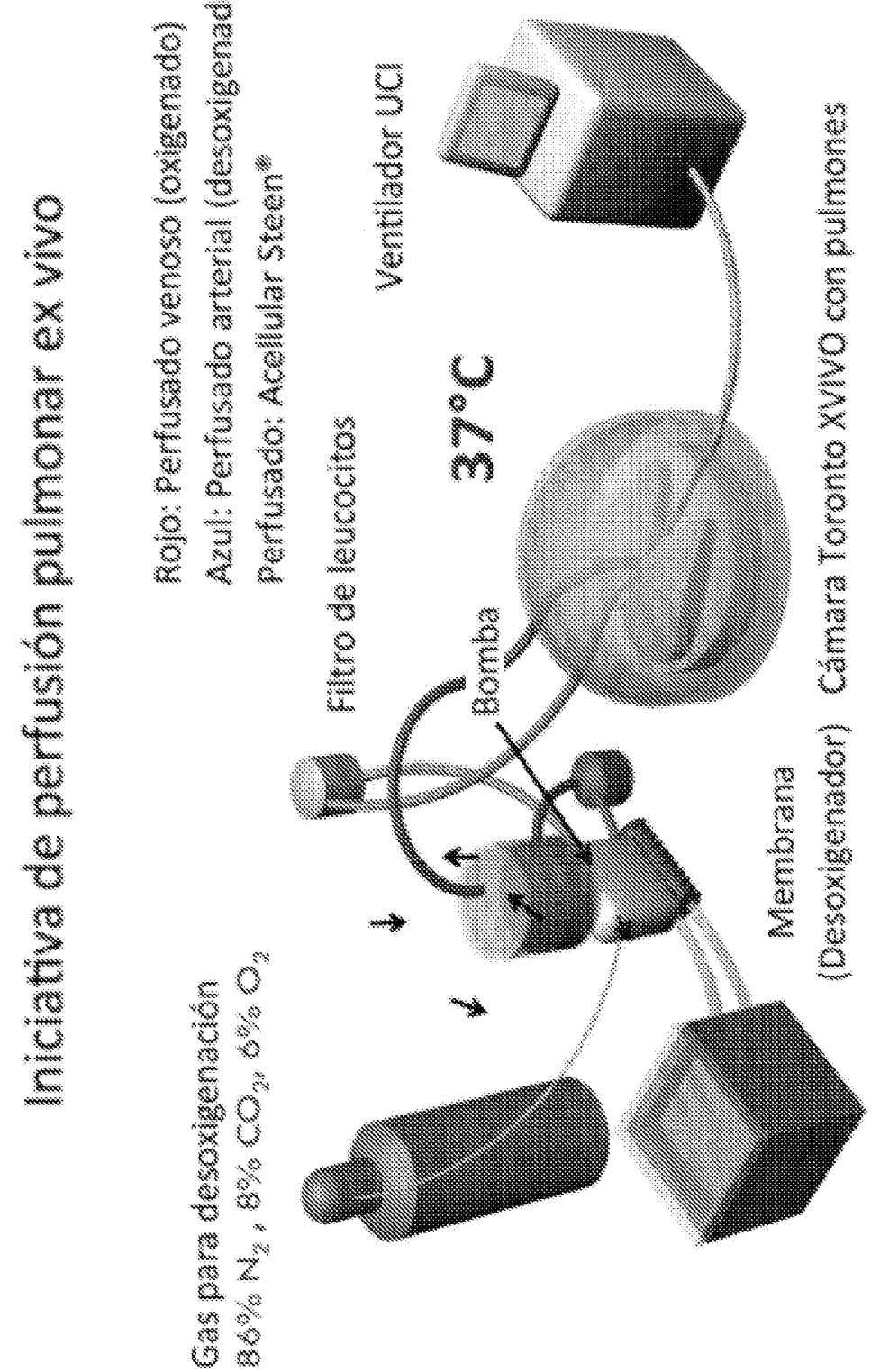

Iniciativa de perfusión pulmonar ex vivo
Rojo: Perfusado venoso (oxigenado)
Azul: Perfusado arterial (desoxigenado)
Perfusado: Acellular Steen®
Gas para desoxigenación
86% N_2, 8% CO_2, 6% O_2
Filtro de leucocitos
Ventilador UCI
Bomba
37°C
Membrana
(Desoxigenador)
Cámara Toronto XVIVO con pulmones

FIGURA 1A

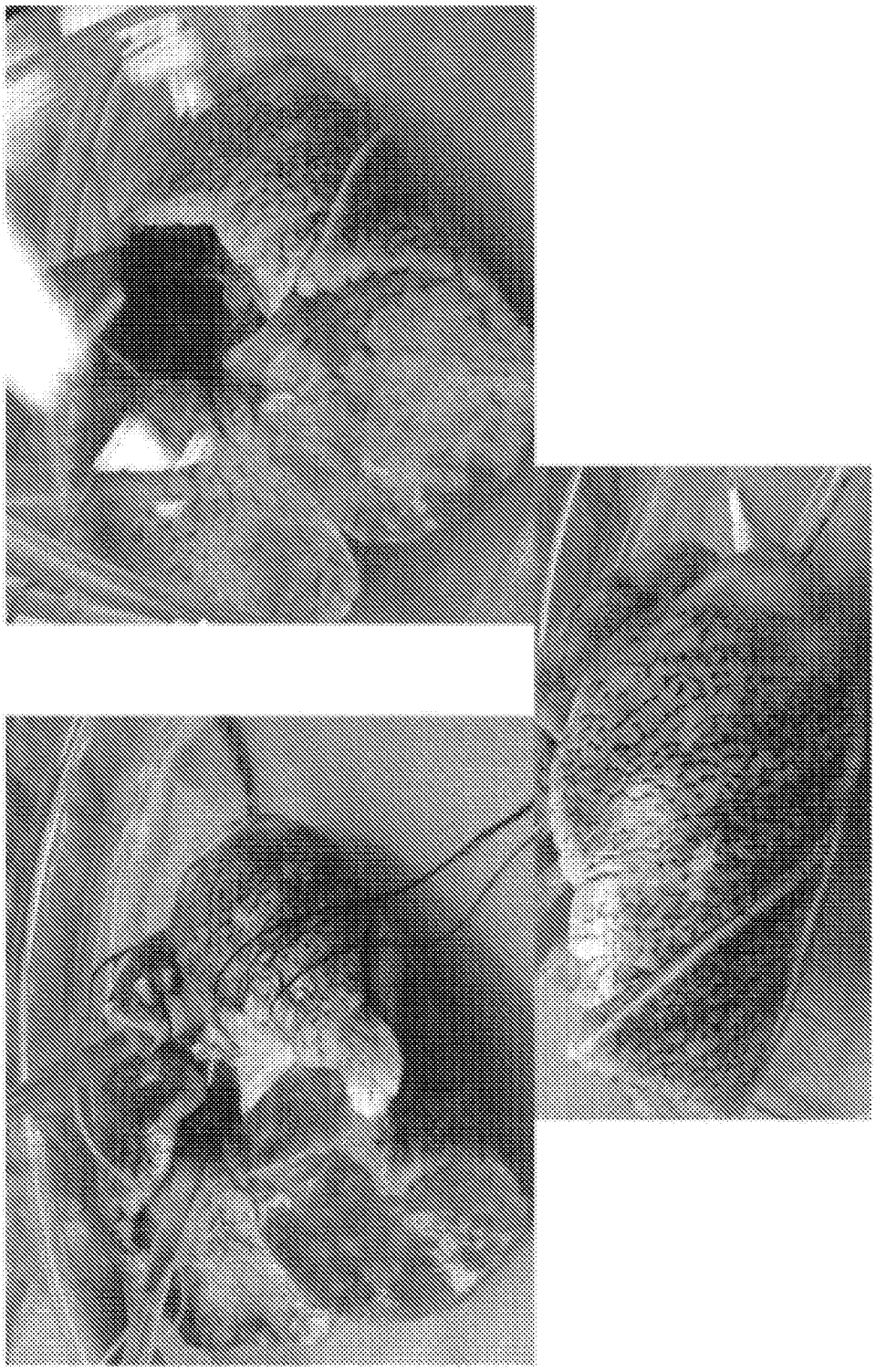


FIGURA 1.8

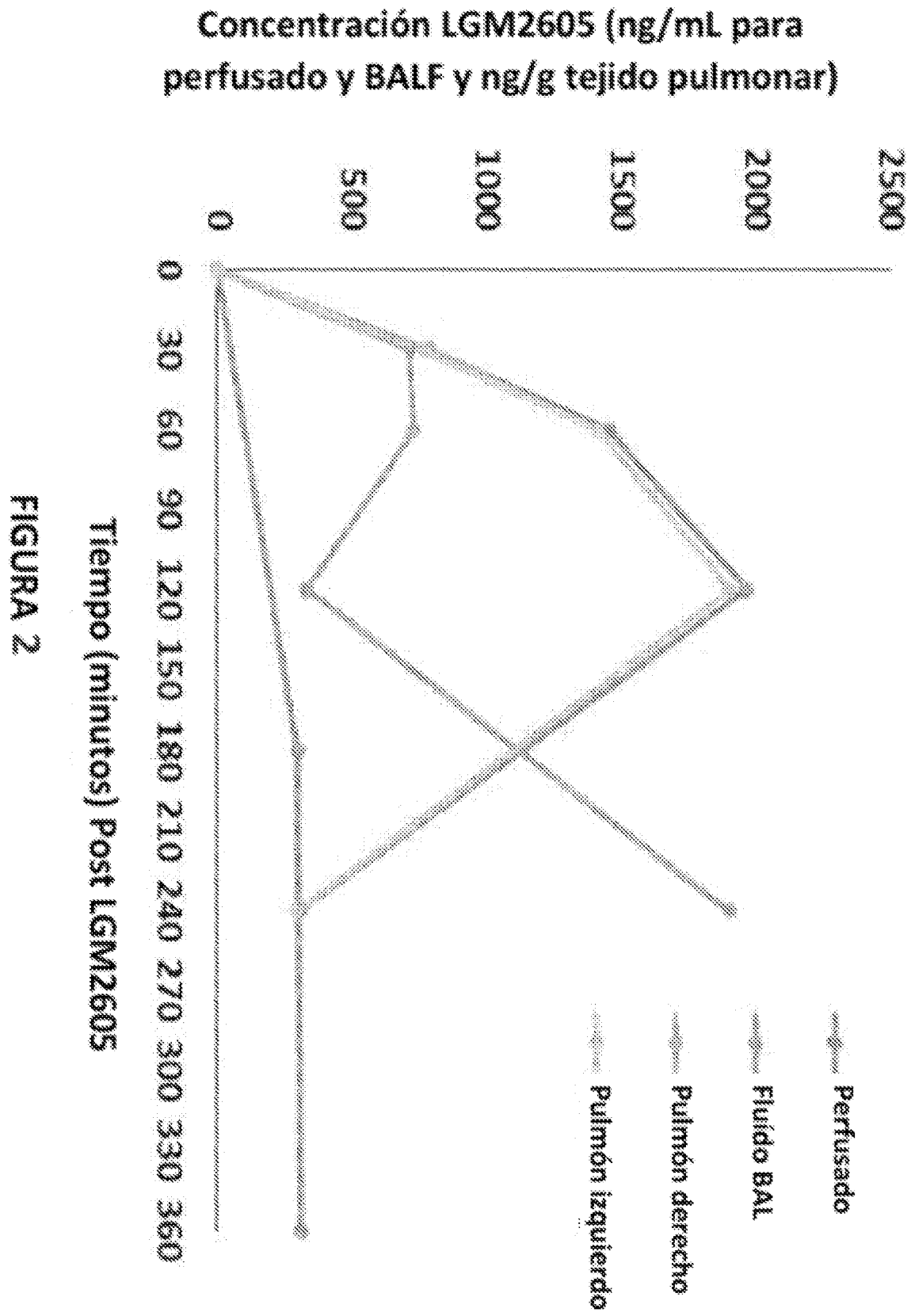

Concentración LGM2605 (ng/mL para perfusado y BALF y ng/g tejido pulmonar)
0
500
1000
1500
2000
2500
0 30 60 90 120 150 180 210 240 270 300 330 360
Tiempo (minutos) Post LGM2605
Perfusado
Fluído BAL
Pulmón derecho
Pulmón izquierdo

FIGURA 2

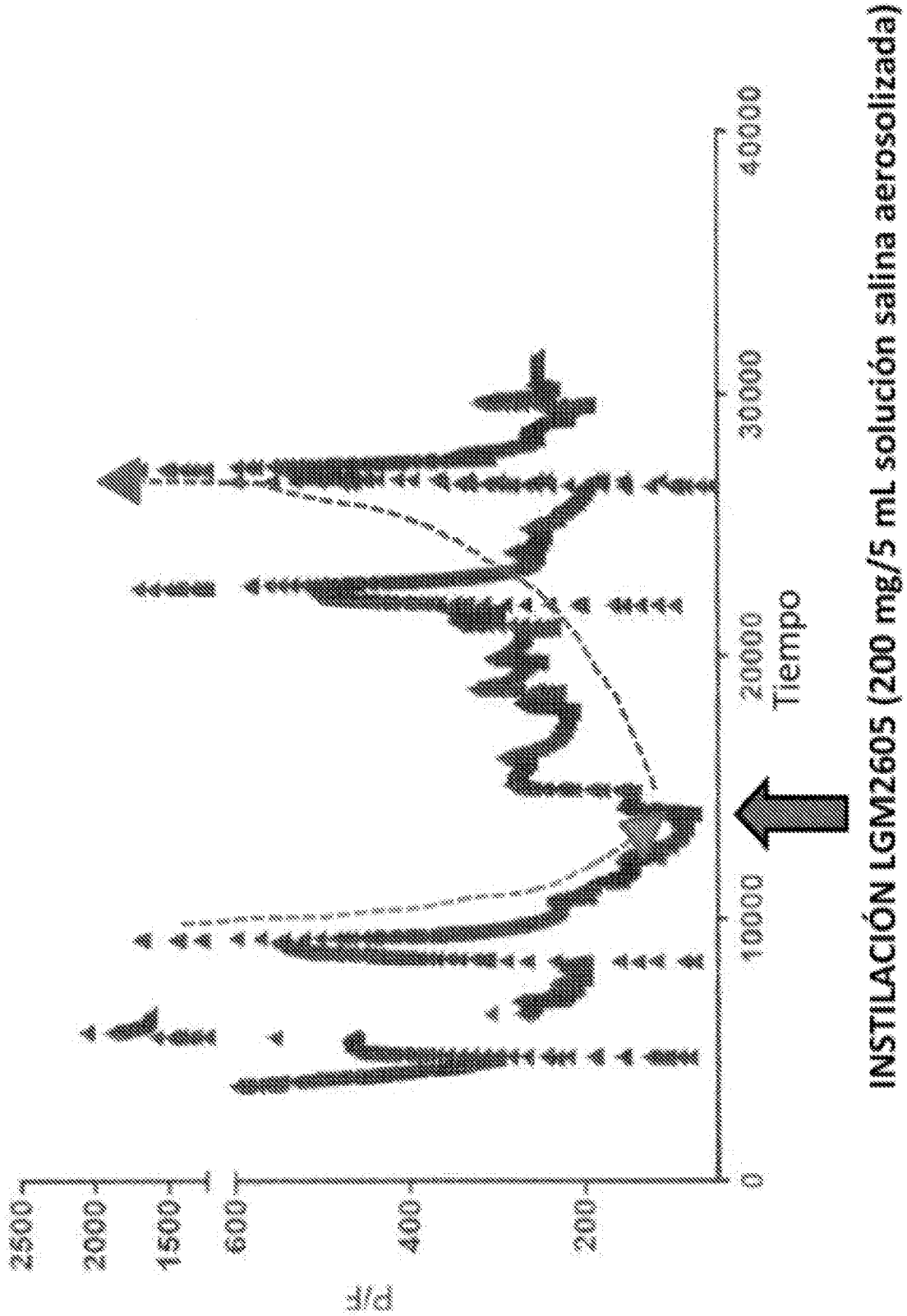

2500
2000
1500
600
400
200
P/F
0
10000
20000
30000
40000
Tiempo
INSTILACIÓN LGM2605 (200 mg/5 mL solución salina aerosolizada)

FIGURA 3A

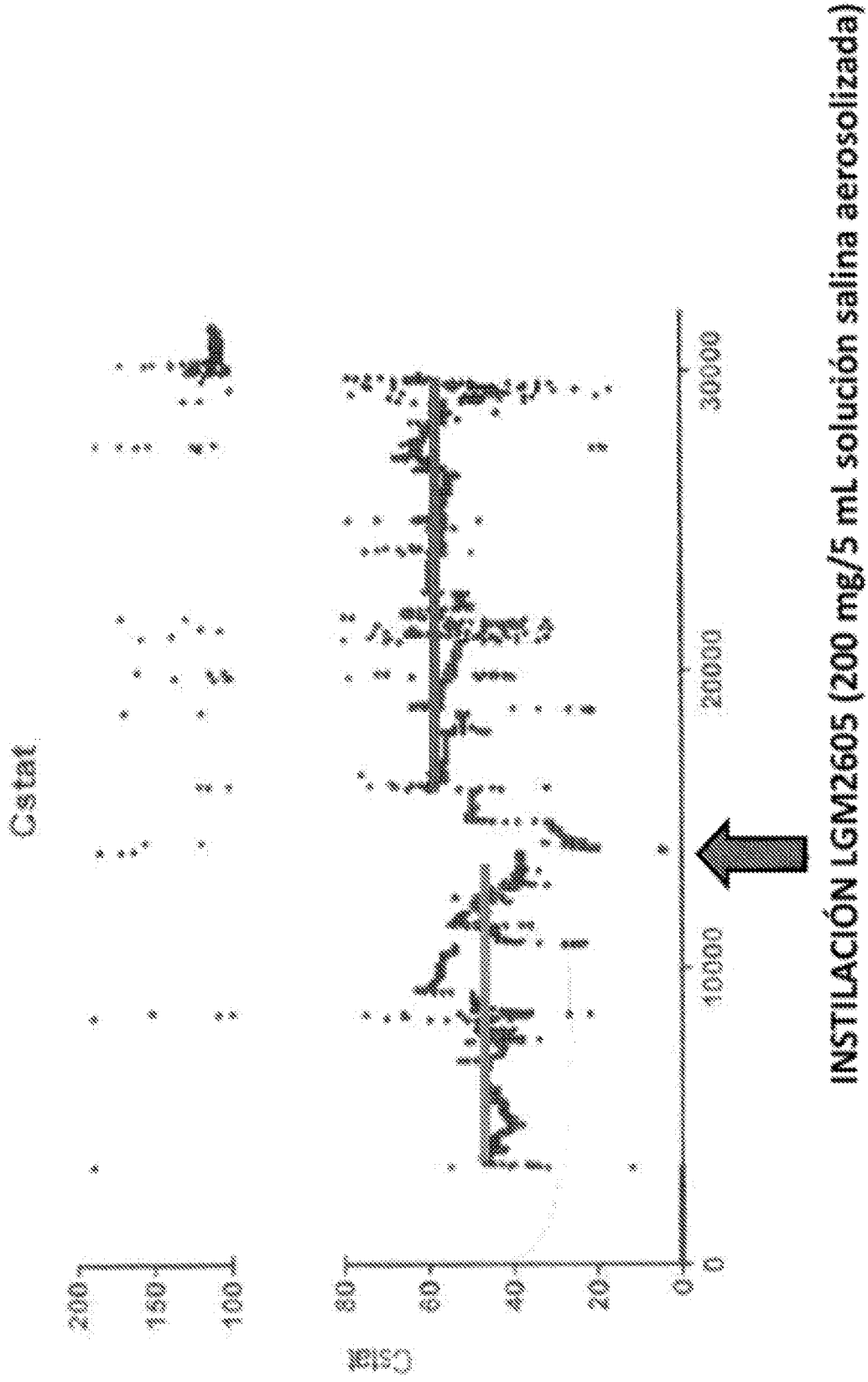

Cstat
Cstat
200
160
100
80
60
40
20
0
0
10000
20000
30000
INSTILACIÓN LGM2605 (200 mg/5 mL solución salina aerosolizada)

FIGURA 3B

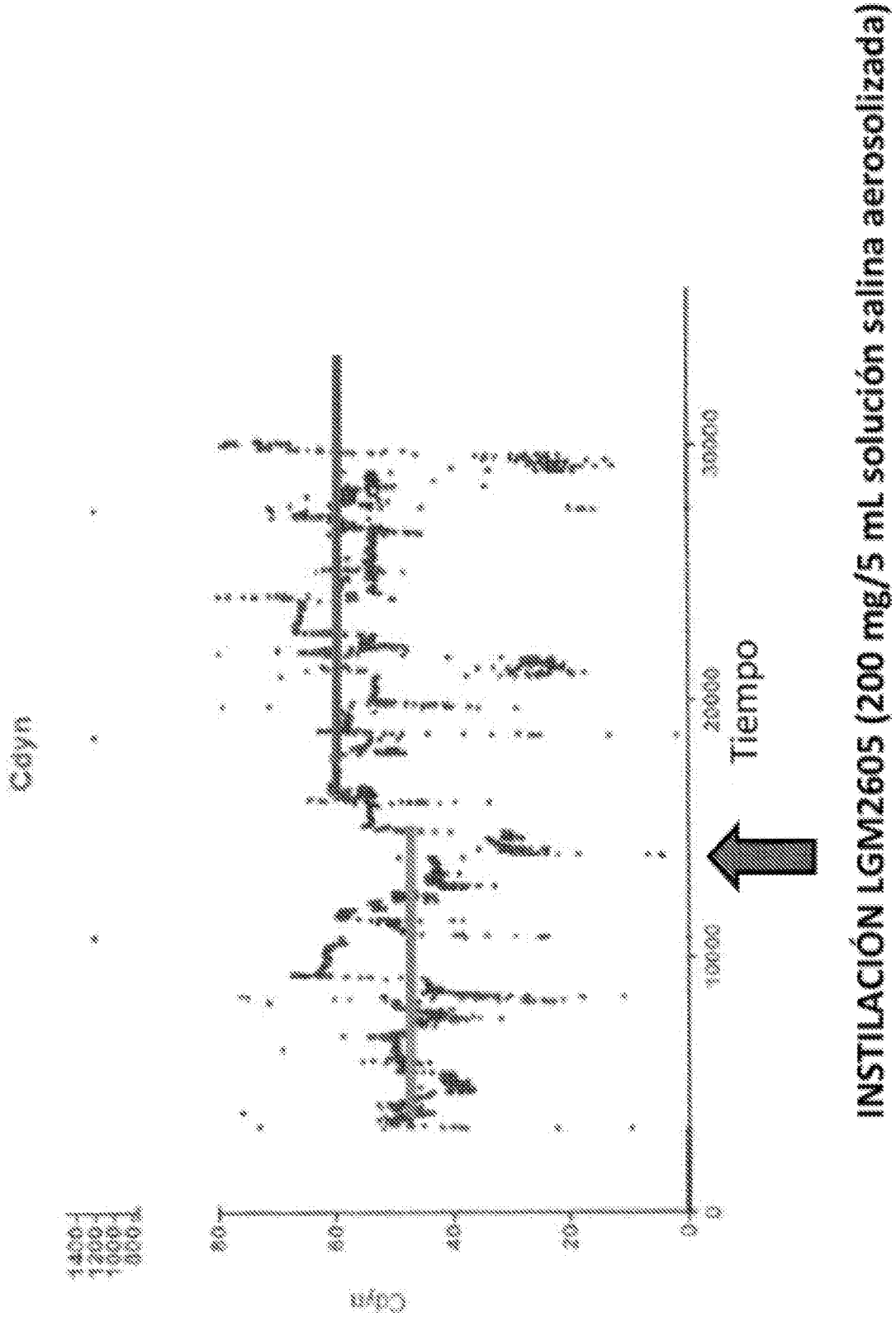

Cdyn
Cdyn
Tiempo
INSTILACIÓN LGM2605 (200 mg/5 mL solución salina aerosolizada)

FIGURA 3C

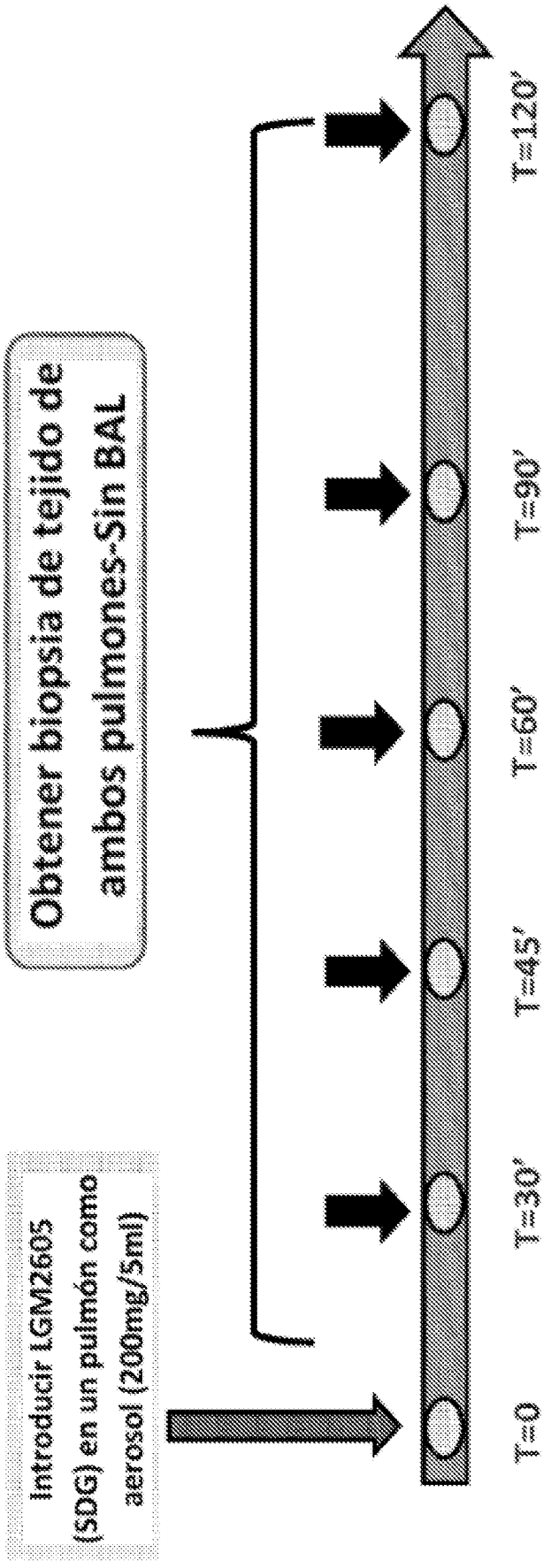

Introducir LGM2605 (SDG) en un pulmón como aerosol (200mg/5ml)
Obtener biopsia de tejido de ambos pulmones-Sin BAL
T=0
T=30'
T=45'
T=60'
T=90'
T=120'

FIGURA 4

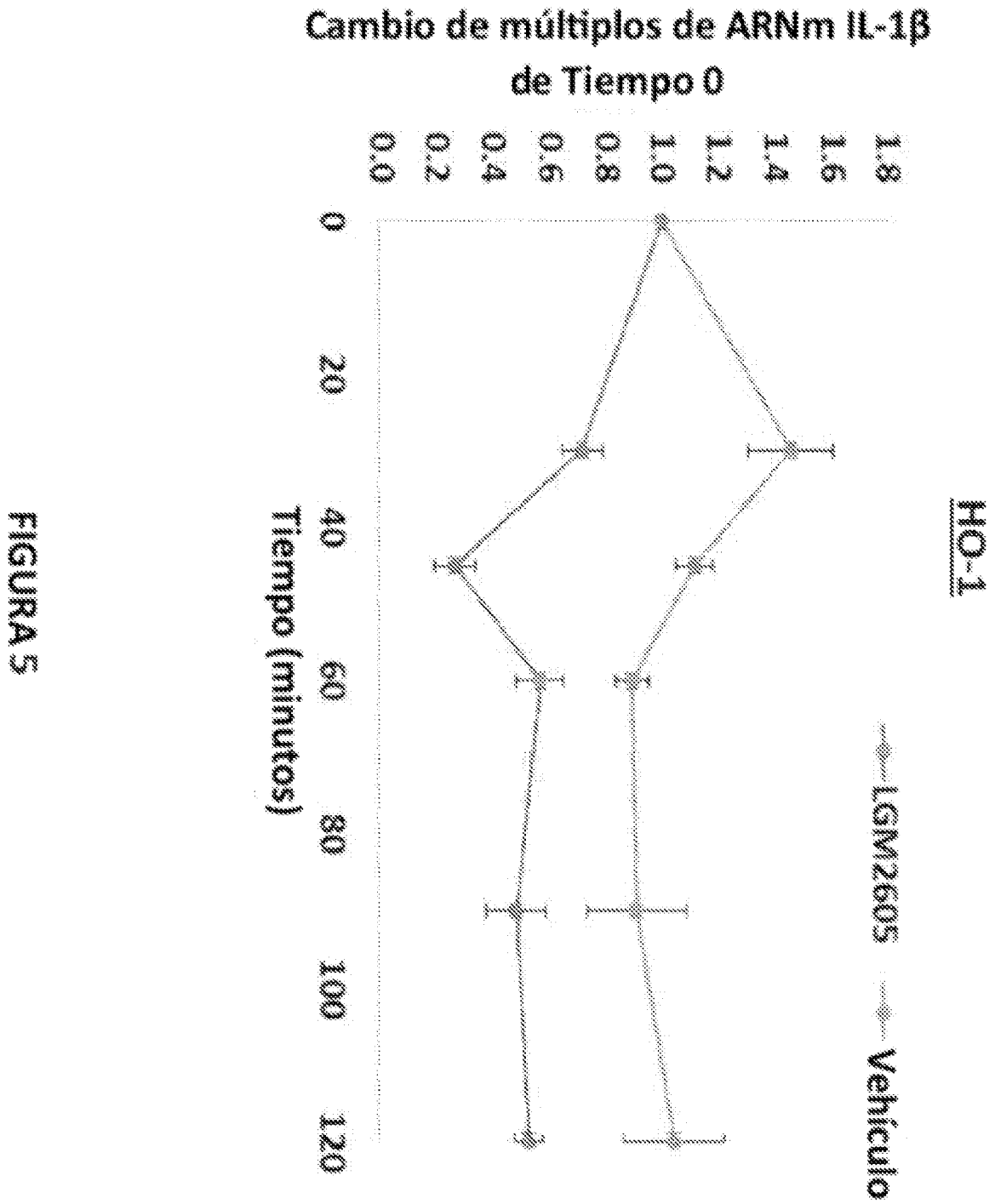
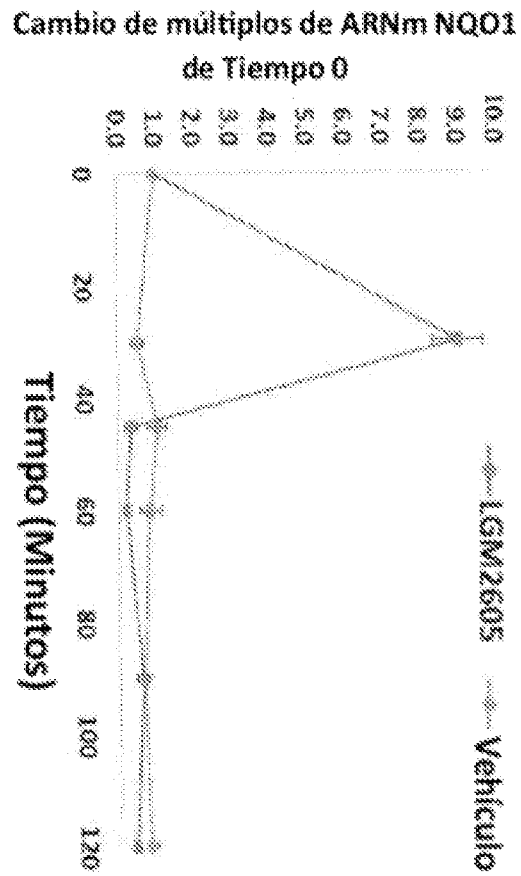

Cambio de múltiplos de ARNm IL-1β de Tiempo 0
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
1.4
1.6
1.8
0
20
40
60
80
100
120
Tiempo (minutos)
HO-1
LGM2605
Vehículo

FIGURA 5


Cambio de múltiplos de ARNm NQO1
de Tiempo 0
0.0
1.0
2.0
3.0
4.0
5.0
6.0
7.0
8.0
9.0
10.0
0
20
40
60
80
100
120
Tiempo (Minutos)
LGM2605
Vehículo
NQO1

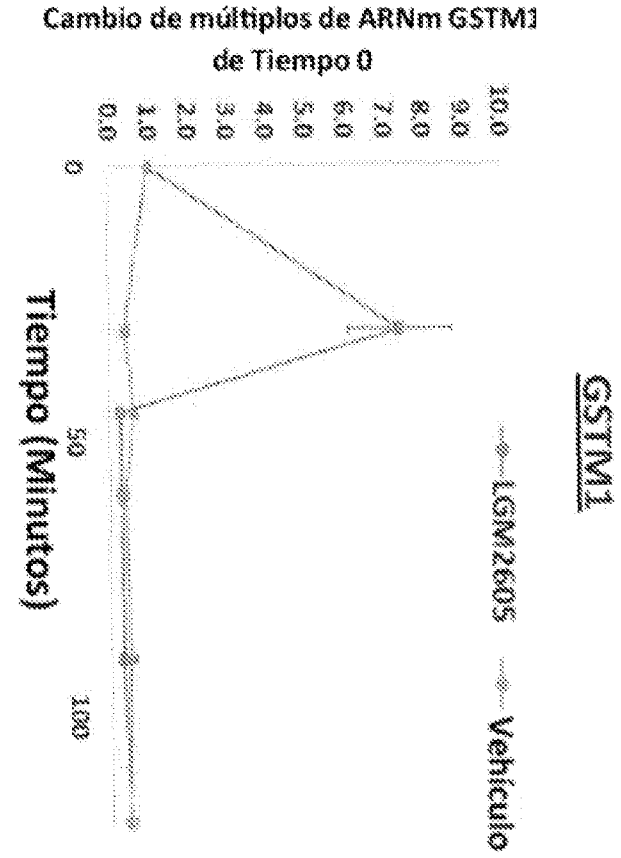

Cambio de múltiplos de ARNm GSTM1
de Tiempo 0
0.0
1.0
2.0
3.0
4.0
5.0
6.0
7.0
8.0
9.0
10.0
0
50
120
Tiempo (Minutos)
LGM2605
Vehículo
GSTM1

FIGURA 6

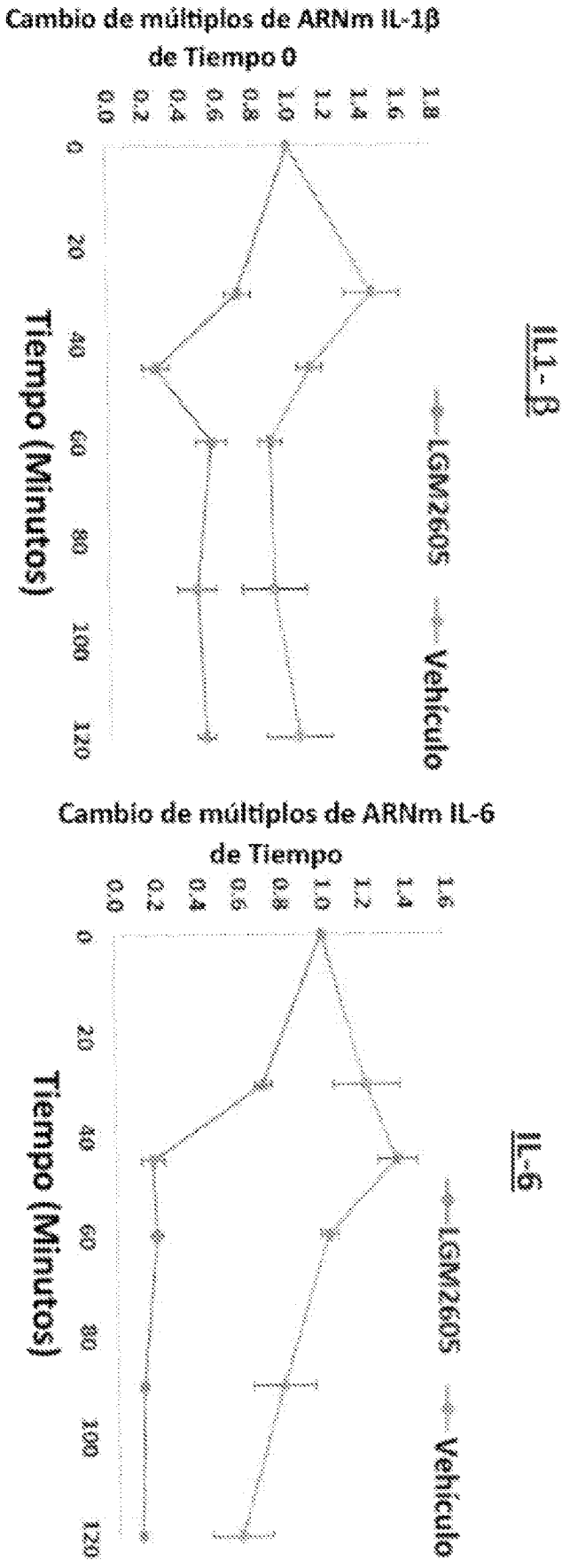

Cambio de múltiplos de ARNm IL-1β
de Tiempo 0
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
1.4
1.6
1.8
0
20
40
60
80
100
120
Tiempo (Minutos)
LGM2605
Vehículo
IL1-β
Cambio de múltiplos de ARNm IL-6
de Tiempo
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
1.4
1.6
0
20
40
60
80
100
120
Tiempo (Minutos)
LGM2605
Vehículo
IL-6

FIGURA 7

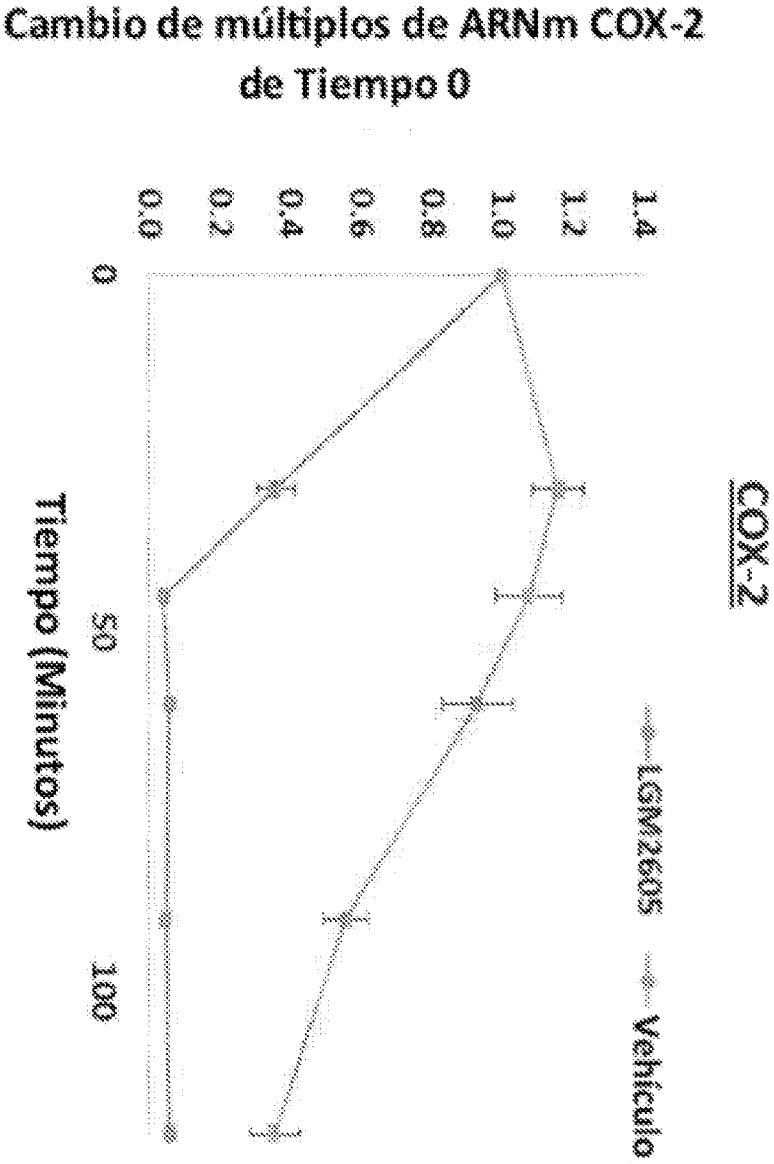

Cambio de múltiplos de ARNm COX-2
de Tiempo 0
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
1.2
1.4
0
50
100
Tiempo (Minutos)
LGM2605
Vehículo
COX-2

FIGURA 8