

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 949 382**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/47** (2006.01)

**A61K 31/44** (2006.01)

**A61K 31/496** (2006.01)

**A61P 27/02** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.09.2017 PCT/US2017/043186**

87 Fecha y número de publicación internacional: **01.02.2018 WO18022437**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.09.2017 E 17835012 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.06.2023 EP 3619232**

54 Título: **Inhibidores multicinasa y usos en fibrosis ocular**

30 Prioridad:

**01.05.2017 US 201762492936 P**

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

**28.09.2023**

73 Titular/es:

**AIVIVA BIOPHARMA, INC. (100.0%)  
848 North Rainbow Boulevard, Suite 2654  
Las Vegas, NV 89107, US**

72 Inventor/es:

**TANG-LIU, DIANE;  
DEVRIES, GERALD, WOODROW y  
LIU, TIFFANY, CONSTANCE**

74 Agente/Representante:

**BERTRÁN VALLS, Silvia**

**ES 2 949 382 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

Inhibidores multicinasa y usos en fibrosis ocular

5 **Campo**

La presente divulgación se refiere a compuestos que poseen un determinado espectro de actividades de inhibición multicinasa. Estos inhibidores multicinasa actúan sobre factores de crecimiento, rutas de señalización de citocinas y/o fases de respuestas fibróticas específicos. Esta divulgación también se refiere a la prevención y/o el tratamiento de fibrosis ocular asociada con estados patológicos, trastornos y/o procedimientos quirúrgicos, incluyendo cicatrización corneal, y fibrosis resultante de cirugía y procedimientos de filtración de glaucoma, procedimientos oculares, degeneración macular asociada a la edad, y vitreoretinopatía proliferativa.

15 **Antecedentes**

La fibrosis ocular provoca importantes deficiencias visuales y ceguera en millones de personas de todo el mundo (Friedlander M, J. Clin. Invest. 117: 576-586, 2007; Yu-Wai-Man C y Tee Khaw P, Expert Rev. Ophthalmol. 10: 65-76, 2014). Está implicada en la patogénesis, o en el fracaso del tratamiento, de todas las principales enfermedades que producen ceguera. La fibrosis es la formación de un exceso de matriz extracelular en un órgano o tejido como resultado de un proceso reparativo o reactivo. La complejidad de estas respuestas ha dado lugar a importantes retos en el desarrollo de terapias antifibróticas y, por tanto, a una enorme necesidad médica no cubierta en esta población de pacientes.

En estos estados patológicos, existe una miríada de factores endógenos que regulan la proliferación, la migración y la transformación celulares, así como el depósito y la remodelación de la matriz extracelular. Estos factores incluyen FGF, VEGF, PDGF, etc. Cada uno de estos factores ha servido de diana para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades oculares. Por ejemplo, la inhibición de la ruta de señalización de un único factor de crecimiento, tal como VEGF, ha producido una mejora en pacientes con enfermedades oculares, tales como degeneración macular asociada a la edad y la retinopatía diabética. Sin embargo, seleccionar como diana un solo factor no ha dado lugar a resultados satisfactorios a largo plazo (Ebenezer D *et al.*, Ophthalmology 121: 656-666, 2014; Maguire MG *et al.*, Ophthalmology 123: 1751-1761, 2016).

La inhibición de múltiples rutas de señalización de factor de crecimiento en diversas fases de la respuesta fibrótica puede ser una estrategia significativamente mejor. El uso de inhibidores multicinasa puede mejorar los resultados a largo plazo. Sin embargo, varios inhibidores multicinasa y/o tratamientos de combinación no han mostrado eficacia en enfermedades de fibrosis, incluyendo enfermedades degenerativas maculares (Kudelka M *et al.*, Expert Rev Ophthalmol. 8: 475-484, 2013) y la fibrosis pulmonar idiopática (Griminger F *et al.*, Eur. Respir. J. ERJ Express, 5 de marzo de 2015; Richeldi L *et al.*, The Lancet, 29 de marzo de 2017).

Mientras que los inhibidores cinasa de la técnica anterior muestran algo de éxito en el tratamiento de algunas enfermedades oculares, todavía existe una necesidad de agentes terapéuticos para el tratamiento de la fibrosis ocular.

45 **Sumario**

La presente invención proporciona un inhibidor multicinasa para su uso en un método de prevención y/o tratamiento de fibrosis asociada con una enfermedad relacionada con el ojo, un trastorno relacionado con el ojo o un procedimiento quirúrgico relacionado con el ojo en un sujeto que lo necesita, en el que el inhibidor multicinasa es nintedanib o una sal del mismo, lenvatinib o una sal del mismo, o una combinación de los mismos.

Estos inhibidores multicinasa son útiles en el tratamiento de la fibrosis ocular, que puede estar asociada con estados patológicos, trastornos y/o procedimientos quirúrgicos en animales y humanos. Los compuestos pueden usarse con fines terapéuticos o profilácticos para tratar la fibrosis ocular.

Los compuestos son particularmente útiles para prevenir o tratar la formación de enfermedades asociadas a fibrosis ocular en humanos y animales.

Los compuestos pueden administrarse mediante inyección ocular, intravítrea, intraocular, intracameral, intralesional, subconjuntival y subtenoniana, mediante administración de fármacos a través de gotas oftálmicas, aerosoles, adhesivos e implantes, y mediante administración intracanalicular, para tratar enfermedades.

Las composiciones en forma líquida incluyen, pero no se limitan a, disoluciones, suspensiones y emulsiones. Las disoluciones estériles de agua o agua-propilenglicol de los compuestos activos son ejemplos de preparaciones líquidas adecuadas para su administración.

Los compuestos pueden usarse para tratar enfermedades/trastornos relacionados con los ojos y la

5 reparación/cicatrización ocular asociada con una transparencia corneal comprometida, formación de cicatrices corneales, formación de cataratas secundarias, cirugía de filtración de glaucoma, procedimientos e implantes quirúrgicos oculares, queratectomía fotorrefractiva, queratomileusis *in situ* con láser, formación y contracción de membranas prerretinianas y epirretinianas, vitreorretinopatía proliferativa, retinopatía diabética proliferativa, edema macular diabético, fibrosis subretiniana/formación de cicatrices subretinianas, gliosis retiniana y formación de membranas coroideas, degeneración macular asociada a la edad y oclusión venosa retiniana.

### Breve descripción de los dibujos

10 La figura 1 muestra la inhibición de la neovascularización corneal en un modelo de sutura corneal de conejo mediante nintedanib, sorafenib y lenvatinib.

15 La figura 2 muestra la inhibición de la fibroplasia, la densidad de colágeno y la alfa SMA (actina de músculo liso) en un modelo de fibrosis inducida por sutura corneal de conejo mediante nintedanib y lenvatinib, pero no mediante sorafenib.

La figura 3 muestra una formación representativa de una ampolla conjuntival en un modelo de conejo de cirugía de filtración de glaucoma.

20 La figura 4 muestra el efecto del tratamiento con inhibidores multikinasa sobre la supervivencia de la ampolla en un modelo de conejo de cirugía de filtración de glaucoma.

25 La figura 5 muestra el efecto de los inhibidores multikinasa sobre la expresión del ARNm del TGF beta1 en un modelo de herida dérmica de conejo.

La figura 6 muestra imágenes representativas de ojos dos semanas después del tratamiento con láser. (A) Angiografía de fondo de ojo con fluoresceína; (B) isolectina B4; y (C) isolectina B4/DAPI.

### Descripción detallada

30 En el presente documento se divulgan compuestos para su uso en la prevención y/o tratamiento de fibrosis que se produce en los ojos (es decir, la fibrosis ocular). Tal fibrosis puede estar asociada con diversas enfermedades o trastornos oculares. Tales trastornos incluyen los derivados de resultados no deseados de procedimientos quirúrgicos. La fibrosis ocular, que puede estar asociada con una enfermedad o trastorno ocular, puede tratarse administrando a un sujeto que necesita tal tratamiento una composición que comprende un inhibidor multikinasa que tiene un espectro selecto de actividades para inhibir cinasas selectas, tales como VEGF y TGF beta. En la presente invención, el inhibidor multikinasa es nintedanib o una sal del mismo, lenvatinib o una sal del mismo, o una combinación de los mismos.

40 Tal como se usa en el presente documento, el término "inhibidor multikinasa" se refiere a un inhibidor que puede inhibir múltiples cinasas. En el presente documento, el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados de los compuestos divulgados en los que el compuesto original se modifica mediante la elaboración de sales ácidas o básicas del mismo.

45 Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales minerales o de ácidos orgánicos de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales convencionales no tóxicas o las sales de amonio cuaternario de los compuestos/moléculas originales formadas, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Por ejemplo, tales sales convencionales no tóxicas pueden incluir las derivadas de ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico.

50 Según algunas realizaciones, los compuestos pueden administrarse en forma de composiciones farmacéuticas que contienen, como principio activo, uno o más de los compuestos de la invención en el presente documento junto con al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

55 En algunas realizaciones, los compuestos/moléculas de la presente invención pueden administrarse por inyección parenteral, intramuscular, subcutánea, ocular, tópica, intraocular, intravítrea, intralesional, subconjuntival y subtenoniana.

60 La dosificación dependerá de la vía de administración, la gravedad de la enfermedad, la edad y el peso del paciente y otros factores que normalmente tiene en cuenta el médico responsable al determinar el régimen individual y el nivel de dosificación más apropiado para un paciente en particular. Es decir, una cantidad terapéuticamente eficaz se basaría en el paciente (edad, sexo, peso, etc.), las condiciones de la enfermedad, la vía de administración, etc. Un experto en la técnica podría determinar una dosis terapéuticamente eficaz sin esfuerzos inventivos.

65 Según las realizaciones de la invención, el régimen de administración podría ser antes de la cirugía (inducción),

después de la cirugía (en o antes del traumatismo/inflamación aguda, proliferación, remodelación, hasta maduración).

Según las realizaciones de la invención, para preparar composiciones farmacéuticas a partir de los compuestos/moléculas de esta invención, los portadores inertes farmacéuticamente aceptables pueden ser sólidos o líquidos.

Se pretende que el término composición incluya la formulación del componente activo o una sal farmacéuticamente aceptable con un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones en forma líquida incluyen disoluciones, suspensiones y emulsiones. Las disoluciones estériles de agua o de agua-propilenglicol de los compuestos/moléculas activos pueden mencionarse como ejemplo de preparaciones líquidas adecuadas para la administración parenteral. Las composiciones líquidas también pueden formularse en disolución acuosa de polietilenglicol. Las disoluciones acuosas para administración oral pueden prepararse disolviendo el componente activo en agua y añadiendo colorantes, aromatizantes, estabilizantes y espesantes adecuados según se desee. Las suspensiones acuosas para su uso oral pueden elaborarse dispersando el componente activo finamente dividido en agua junto con un material viscoso tal como gomas sintéticas naturales, resinas, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y otros agentes de suspensión conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica.

Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse en forma de dosificación unitaria. En tal forma, la composición se divide en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del componente activo. La forma de dosificación unitaria puede ser una preparación envasada, conteniendo el envase cantidades específicas de las preparaciones.

Las composiciones pueden formularse para cualquier vía y medio de administración adecuados. Los portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables incluyen los usados en formulaciones adecuadas para la administración parenteral. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse por cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia.

Las realizaciones de la invención se ilustrarán con los siguientes ejemplos. Un experto en la técnica apreciará que estos ejemplos son meramente ilustrativos y que son posibles otras modificaciones y variaciones sin apartarse del alcance de la invención.

#### Ejemplo 1

Con el fin de investigar el efecto antifibrótico de los compuestos de prueba tras una herida en el ojo, se usó un modelo de fibrosis ocular inducida por sutura. Se colocó una sutura por vía intraestromal bajo microscopio en la córnea de conejos. En cada ojo, se colocó una sutura de seda 9-0, en posición vertical, temporal con respecto al centro de la córnea y una segunda sutura se colocó nasal con respecto al centro de la córnea. Cada sutura tenía dos incursiones estromales a aproximadamente 2 mm del limbo. Se instilaron tópicamente en los ojos (35  $\mu$ l/ojo) compuestos de prueba que tienen determinado espectro de actividades de inhibición multicinasa y/o vehículo tres veces al día durante 10 días a partir del día siguiente a la cirugía. Los grupos de tratamiento incluyeron vehículo (como control), nintedanib (0,3%, p/p), pirfenidona (1%, p/p), riociguat (0,3%, p/p), sorafenib (0,3%, p/p) y lenvatinib (0,3%, p/p). Se usaron seis ojos izquierdos por grupo de tratamiento.

Durante la fase en vida, las observaciones oculares macroscópicas de congestión e hinchazón conjuntivales de muy leves a moderadas fueron similares entre los grupos (incluyendo el grupo de control), con excepción del grupo tratado con riociguat, que tendió a presentar una reacción ligeramente más grave durante el transcurso del periodo de observación de 10 días. Los animales se sacrificaron el día 11 y se enuclearon y disecaron los ojos para su evaluación histopatológica.

Los resultados muestran que lenvatinib, nintedanib y sorafenib fueron eficaces en la reducción de las áreas de neovascularización en la superficie corneal (figura 1). Además, nintedanib y lenvatinib redujeron significativamente la fibroplasia y/o la densidad de colágeno, tal como evidenciaron las tinciones histológicas, incluyendo el protocolo de H&E y tricrómico de Masson usado para diferenciar las células del tejido conjuntivo circundante, especialmente la formación de colágeno en las respuestas fibróticas (figura 2). Por el contrario, sorafenib tuvo escaso o ningún efecto sobre la fibroplasia o la formación de colágeno. Además, nintedanib y lenvatinib redujeron significativamente la tinción de alfa SMA (actina de músculo liso) mediante análisis inmunohistoquímico. La SMA alfa es un marcador clave de los miofibroblastos, cuya función en la cicatrización de heridas y la formación de matriz extracelular está asociada con la enfermedad fibrótica. Por otra parte, el sorafenib no tuvo ningún efecto sobre la SMA alfa en comparación con el tratamiento con vehículo (figura 2).

Los resultados del estudio muestran una reducción histológica de la neovascularización, la fibroplasia, los materiales relacionados con el colágeno y la SMA mediante nintedanib y lenvatinib. Los resultados de este estudio también muestran que no todos los inhibidores multicinasa serán eficaces para tratar las respuestas fibróticas tisulares. En

particular, nintedanib y lenvatinib son eficaces, pero sorafenib no lo es.

#### Ejemplo 2

5 Con el fin de investigar el efecto de prevención de formación de cicatrices de los compuestos de prueba aplicados tópicamente tras cirugías oculares, se realizó una cirugía de filtración de glaucoma en ojos de conejo. La cicatrización postoperatoria de las heridas subconjuntivales es una causa principal del defecto tardío de la ampolla después de la cirugía de filtración de glaucoma en humanos. Se sometió a prueba el efecto de determinados inhibidores multicitinasas en la supervivencia de la ampolla a lo largo del tiempo. La inhibición de la fibrosis subconjuntival tras la cirugía mejorará la supervivencia de la ampolla. Se usó vehículo como control negativo y pirfenidona como control positivo.

15 Se creó un tracto escleral en los ojos izquierdos superiormente mediante la tunelización de una cánula intravenosa biselada de calibre 22 a través de la esclerótica, comenzando detrás del limbo y continuando hasta que la cánula es visible en la cámara anterior. La cánula se enjuagó con heparina sódica (1.000 unidades) antes de su colocación. Se retiró la aguja de la cánula y se hizo avanzar la cánula más allá del margen pupilar para evitar que el iris bloqueara el tubo. La cánula se recortó aproximadamente 2 mm y se fijó a la esclerótica mediante sutura. Tanto la capsula de Tenon como la conjuntiva se suturaron con Prolene 9-0. Se usaron seis conejos por grupo y el ojo izquierdo de cada conejo se sometió a cirugía de filtración de glaucoma. Los grupos de tratamiento incluyen vehículo como control negativo, pirfenidona (1%, p/p) como control positivo, sorafenib (0,3%, p/p) y lenvatinib (0,3%, p/p). Se aplicaron gotas oftálmicas (35 µl) por vía tópica en los ojos tras la cirugía tres veces al día durante 30 días. Se sacrificaron todos los animales el día 30.

25 Los exámenes oftalmológicos mostraron una elevada puntuación total del examen ocular (basada en un sistema de clasificación ocular modificado de Hackett y McDonald) en los ojos operados. La ampolla se monitorizó durante todo el estudio. Los volúmenes de la ampolla se midieron con calibradores. Los volúmenes globales de la ampolla se aumentaron de manera uniforme el día 2, con una gran reducción del volumen el día 4. Se observaron diferencias entre los grupos el día 7, y la mayoría de las ampollas desaparecieron entre el día 14 y el día 30, lo que indica el defecto de la ampolla debido a la formación de cicatrices subconjuntival. Los resultados de los grupos de vehículo y pirfenidona fueron similares a los descritos en la bibliografía (Zhong H *et al.*, Invest Ophthalmol Vis Sci, 52: 3136-3142, 2011). La figura 3 muestra una ampolla representativa el día 4 en un ojo tratado con sorafenib al 0,3% tres veces al día.

35 Cuando se monitorizaron las ampollas a lo largo del tiempo, los tratamientos con pirfenidona (el control positivo) y lenvatinib mantuvieron la supervivencia de las ampollas el día 7, en comparación con los grupos de vehículo y sorafenib (Figura 4).

40 El día 14, todos los ojos tratados con sorafenib mostraron defecto de la ampolla. El día 30, todos los ojos tratados con vehículo y pirfenidona mostraron defecto de la ampolla, mientras que en el grupo tratado con lenvatinib aún quedaba ampolla (1 de 6 animales).

45 Estos resultados muestran que los tratamientos con determinados inhibidores multicitinasas, tales como lenvatinib, pero no sorafenib, son capaces de inhibir la fibrosis ocular en modelos de formación de cicatrices subconjuntival asociada con cirugías oculares.

#### Ejemplo 3

50 El hecho de que no todos los inhibidores multicitinasas sean eficaces en el tratamiento o la prevención de la fibrosis ocular sugiere que los compuestos eficaces deben interferir en múltiples fases de la fibrosis. Se sospecha que el TGF beta podría estar implicado. La fibrosis es una respuesta reactiva y/o reparadora de fase tardía en los tejidos asociada con enfermedades, traumatismos, trastornos genéticos o infecciones. Existe un gran solapamiento en la fisiopatología de la fibrosis, independientemente del órgano o tejido afectado. Por tanto, se usó un modelo de herida dérmica más conveniente para comprobar si es necesaria la inhibición del TGF beta.

55 Los compuestos de prueba se examinaron en heridas dérmicas de grosor total en conejos. En este estudio se usaron siete conejos blancos de Nueva Zelanda machos, cuyo peso corporal oscilaba entre 3,03 y 3,40 kg. Se colocaron cuatro heridas en la superficie ventral de ambas orejas usando una biopsia en sacabocados de piel de 8 mm. Se administraron nintedanib (1,0%, p/p), lenvatinib (1,0%, p/p) y sorafenib (1,0%, p/p) mediante inyecciones intradérmicas o intralesionales de 0,05 ml los días 15 y 29 después de la cirugía. Se sacrificaron los animales 14 días después de la última administración de los agentes de prueba. Se recogieron las zonas del traumatismo y se dividieron por la mitad. Una mitad se conservó en formol para el examen histológico y la otra mitad se congeló para el análisis del TGF beta.

65 La tinción H&E de los tejidos se evaluó de manera semicuantitativa para detectar inflamación y neovascularización. La fibrosis tisular y la organización del colágeno se evaluaron mediante la tinción de tricrómico de Mason. Se promediaron las puntuaciones de cuatro zonas intradérmicas que recibieron artículos de prueba. La mayoría de los

tejidos cicatriciales se componían de neovascularización, hiperplasia fibroblástica, desorganización del colágeno y reepitelización.

5 El compuesto de prueba nintedanib (tabla 1) produjo mucha menos neovascularización y aproximadamente la misma fibrosis que las heridas no tratadas. La puntuación promedio total de las heridas de prueba fue 1,5 inferior a la de las heridas no tratadas. En general, las zonas de prueba presentan una menor formación de cicatrices, en comparación con las zonas de control.

10 Tabla 1. Hallazgos histopatológicos de la herida de oreja de conejo tratada con dosis intradérmica de nintedanib al 1% p/p

	Neovascularización	Fibrosis/Colágeno	Reepitelización	Puntuación total
Media tratados	1	3	0,5	4,5
Control no tratado	3	3	0	6

15 El compuesto de prueba sorafenib (tabla 2) produjo un ligero aumento de la neovascularización y una fibrosis similar o mayor, en comparación con las zonas de control. En general, el compuesto de prueba no parece haber reducido la formación de cicatrices, en comparación con las zonas de la herida no tratadas.

20 Tabla 2. Hallazgos histopatológicos de la herida de oreja de conejo tratada con dosis intradérmica de sorafenib al 1% p/p

	Neovascularización	Fibrosis/Colágeno	Reepitelización	Puntuación total
Media tratados	3	2,5	0,3	5,8
Control no tratado	2	2	0	4

El compuesto de prueba lenvatinib (tabla 3) pareció producir una disminución de la fibrosis, en comparación con las zonas de la herida de control. La puntuación total de las zonas tratadas fue 0,5 inferior a la de la herida de control.

25 Tabla 3. Hallazgos histopatológicos de la herida de oreja de conejo tratada con dosis intradérmica de lenvatinib al 1% p/p

	Neovascularización	Fibrosis/Colágeno	Reepitelización	Puntuación total
Media tratados	2	2,5	0	4,5
Control con vehículo	2	3	0	5

30 La expresión de ARNm del TGF- $\beta$  en las muestras de traumatismo tratadas se comparó con la expresión en las muestras no tratadas, y los resultados se muestran en la figura 5. En general, las medias en veces de la expresión de ARNm del TGF- $\beta$  en las muestras tratadas con nintedanib y lenvatinib son inferiores al nivel de expresión en las muestras de traumatismo no tratadas. Por el contrario, las muestras de animales tratados con el inhibidor multicitinasa sorafenib no mostraron niveles medios de expresión de TGF- $\beta$  significativamente diferentes de las muestras de traumatismo no tratadas. Estos resultados apoyan la predicción de que los inhibidores eficaces de la fibrosis ocular suprimirían la expresión de TGF- $\beta$ .

40 Estos datos respaldan el hecho de que nintedanib y lenvatinib poseen un determinado espectro de actividades de inhibición multicitinasa necesarias para tratar la fibrosis ocular asociada con estados patológicos, trastornos y procedimientos quirúrgicos. El determinado espectro de inhibición multicitinasa implica la inhibición de la ruta de señalización de TGF- $\beta$ , entre otras cosas.

## Ejemplo 4

5 También se evaluaron los efectos antifibróticos de los compuestos de prueba en un modelo de fibrosis subretiniana en ratones C57BL/6. Se generaron de tres a cinco lesiones en la membrana de Bruch del ojo de estudio mediante fotocoagulación con láser (tamaño de punto de 75  $\mu\text{m}$ , duración de 0,1 s, 90 mW, OcuLight TX 532 nm). La fibrosis subretiniana empezó a formarse 5-7 días después de la aplicación del láser. El día de la aplicación del láser se inyectaron por vía intravítrea compuestos de prueba que tienen un determinado espectro de actividades de inhibición multicinasas o un vehículo. La concentración de dosificación de los compuestos de prueba fue del 1% (p/p) de nintedanib y lenvatinib. Los grupos de control fueron el vehículo y el anticuerpo anti-VEGF164 de ratón. Había 12 ratones por grupo de tratamiento. Se inyectó aproximadamente 1  $\mu\text{l}$  de cada uno de los compuestos de prueba, vehículo o control positivo por vía intravítrea en el ojo derecho de cada animal. Los días 15 y 35, se examinaron los ojos con angiografía con fluoresceína, seguida de enucleación. Se usó inmunotinción en la coroides disecada para evaluar la fibrosis subretiniana (por ejemplo, colágeno 1, isolectina B4 y/o DAPI). Los anticuerpos primarios usados fueron la isolectina B4 conjugada con fluoresceína (isolectina B4 conjugada con FITC) y el anticuerpo anticolágeno tipo 1. En la figura 6 se muestran imágenes representativas de la angiografía de fondo de ojo con fluoresceína, isolectina B4 y DAPI. El tratamiento con anticuerpo anti-VEGF no tuvo ningún efecto notable sobre la fibrosis subretiniana, en comparación con el grupo de tratamiento con vehículo. Tanto nintedanib como lenvatinib produjeron notables reducciones de los tamaños de las lesiones neovasculares. Los resultados del estudio demostraron que lenvatinib y nintedanib tienen efectos terapéuticos en el tratamiento de la fibrosis subretiniana. Así pues, estos compuestos pueden usarse para tratar la fibrosis subretiniana asociada con enfermedades proliferativas de la retina.

## Ejemplo 5

25 El objetivo de este estudio de diez días era evaluar la tolerancia local y la distribución ocular de nintedanib y lenvatinib (0,3% p/p) cuando se administran por instilación tópica ocular en los ojos. Se usaron de cinco a siete conejos blancos de Nueva Zelanda machos por grupo de tratamiento. Cada ojo recibió una gota oftálmica de 35  $\mu\text{l}$  de vehículo, nintedanib (0,3% p/p) o lenvatinib (0,3%) tres veces al día durante 10 días. Después la última dosis, el día 11, se sacrificaron los animales, se enuclearon los ojos y se recogieron plasma y tejidos oculares. Las concentraciones tisulares y plasmáticas de estos compuestos se midieron mediante CL-EM/EM.

35 Las concentraciones tisulares oculares de estos compuestos en diversos tejidos se enumeran en las tablas 4 y 5. La instilación tópica de nintedanib y lenvatinib al 0,3% p/p suministró altas concentraciones del fármaco en los tejidos anteriores de la conjuntiva y la córnea y concentraciones significativas en la coroides y la retina de los conejos. Debido a que se mantuvo este nivel de exposición al fármaco en los ojos, se observó congestión e hinchazón conjuntival de muy leve a moderada. El grado de congestión e hinchazón fue similar en todos los grupos (incluyendo el control con vehículo) a lo largo del transcurso del periodo de 10 días de observación.

40 Tabla 4. Concentración tisular ocular de nintedanib y su metabolito en ng/g después de la instilación tópica de nintedanib al 0,3% p/p tres veces al día durante diez días en ojos de conejo.

Nintedanib	Media	EEM	N
Conjuntiva	118,2	70,27	5
Met. en la conjuntiva	6,85	2,16	5
Córnea	36,17	9,27	5
Met. en la córnea	33,50	9,27	5
Humor acuoso	0	0	5
Met. en el humor acuoso	1,7	0,3	5
Cuerpo ciliar del iris	2,99	0,94	5
Met en el cuerpo ciliar del iris	2,99	0,94	5
Humor vítreo	0	0	5

Met. en el humor vítreo	0	0	5
Coroides	10,00	3,86	5
Met. en la coroides	3,70	0,52	5
Retina	0,451	0,087	5
Met. en la retina	0	0	5

Tabla 5. Concentración tisular ocular de lenvatinib en ng/g después de la instilación tópica de lenvatinib al 0,3% p/p tres veces al día durante diez días en ojos de conejo.

Lenvatinib	Media	EEM	N
Conjuntiva	37,13	6,01	5
Córnea	52,37	4,12	6
Humor acuoso	1,3	0,2	6
Cuerpo ciliar del iris	12,72	1,55	6
Humor vítreo	0	0	6
Coroides	18,47	4,31	6
Retina	8,72	0,80	6

5

La concentración plasmática, media ( $\pm$ DE), el día 11 para nintedanib estaba por debajo del límite cuantificable, para su metabolito era de 1,09 ( $\pm$ 0,14) ng/ml, y para lenvatinib era de 98,5 ( $\pm$ 11) ng/ml.

10 Ejemplo 7. Distribución en el tejido ocular después de la instilación tópica de sorafenib y lenvatinib como gotas oftálmicas en ojos de conejo.

15 El objetivo de este estudio fue evaluar la tolerancia local y la distribución ocular de sorafenib y lenvatinib (0,3% p/p) cuando se administran por instilación tópica ocular en los ojos. Se usaron de cinco a seis conejos blancos de Nueva Zelanda machos por grupo de tratamiento. Cada ojo derecho recibió una gota oftálmica de 35  $\mu$ l del vehículo, sorafenib (0,3% p/p) o lenvatinib (0,3% p/p) tres veces al día durante 5 días. El día de dosificación 5, se sacrificaron los animales, se enuclearon los ojos y se recogieron plasma y tejidos oculares. Las concentraciones tisulares y plasmáticas de los compuestos se midieron mediante CL-EM/EM.

20 Los animales de los grupos de estudio mostraron aumentos normales de peso corporal a lo largo del estudio. Los exámenes oculares del ojo derecho no mostraron hallazgos significativos. Las puntuaciones promedio globales de los exámenes de todos los animales de todos los grupos eran muy similares a los valores de referencia durante todo el estudio. La presión intraocular (PIO) se midió con una sonda Tonovet. Se obtuvieron seis mediciones consecutivas y se registró la PIO promedio mostrada en la pantalla. La PIO en el ojo derecho se mantuvo cerca o ligeramente por encima de los valores de referencia durante todo el experimento en todos los grupos.

25 Las concentraciones tisulares oculares de estos fármacos se enumeran en las tablas 6 y 7. La instilación tópica de sorafenib y lenvatinib al 0,3% p/p suministró altas concentraciones del fármaco en los tejidos anteriores de la conjuntiva, la esclerótica y la córnea, así como concentraciones significativas en la coroides y la retina de los conejos.

30 Tabla 6. Concentración tisular ocular de sorafenib en ng/g después de la instilación tópica de sorafenib al 0,3% tres veces al día durante cinco días en ojos de conejo.

Sorafenib	Media	EEM	N
-----------	-------	-----	---

Conjuntiva	859,8	528,9	6
Córnea	131,4	10,0	6
Esclerótica	16,36	4,00	6
Humor acuoso	0	0	6
Cuerpo ciliar del iris	3,337	0,408	6
Humor vítreo	0,11	0,08	6
Retina	17,36	2,41	6
Coroides	8,191	0,702	6

Tabla 7. Concentración tisular ocular de lenvatinib en ng/g después de la instilación tópica de lenvatinib al 0,3% tres veces al día durante cinco días en ojos de conejo.

Lenvatinib	Media	EEM	N
Conjuntiva	299,7	141,9	6
Córnea	178,0	41,2	6
Esclerótica	49,05	7,11	6
Humor acuoso	5,49	1,14	6
Cuerpo ciliar del iris	18,24	2,04	6
Humor vítreo	0,619	0,09	6
Retina	23,53	2,91	6
Coroides	38,00	3,66	6

5 Las concentraciones plasmáticas, media ( $\pm$ DE), el día 5 de la dosificación fueron de 5,09 ( $\pm$ 1,27) ng/ml para sorafenib, y de 131 ( $\pm$ 24) ng/ml para lenvatinib.

10 Las concentraciones tanto de sorafenib como de lenvatinib en los tejidos del segmento anterior, incluidas la conjuntiva y la córnea, fueron elevadas y esencialmente iguales. Estos resultados apoyan la conclusión de que cualquier diferencia en el modelo de eficacia animal por administración tópica a los ojos se debe a diferencias en su actividad farmacológica y no en sus perfiles farmacocinéticos.

15 Los ejemplos anteriores muestran que las aplicaciones oftálmicas de los compuestos de la invención pueden alcanzar concentraciones suficientes para producir efectos terapéuticos.

Aunque las realizaciones de la invención se han ilustrado con un número limitado de ejemplos, un experto en la técnica apreciaría que son posibles otras modificaciones y variaciones sin apartarse del alcance de la invención. Por tanto, el alcance de la protección de la invención sólo debe limitarse por las reivindicaciones adjuntas.

20

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Inhibidor multicitinasa para su uso en un método de prevención y/o tratamiento de fibrosis asociada con una enfermedad relacionada con el ojo, un trastorno relacionado con el ojo o un procedimiento quirúrgico relacionado con el ojo en un sujeto que lo necesita, en el que el inhibidor multicitinasa es nintedanib o una sal del mismo, lenvatinib o una sal del mismo, o una combinación de los mismos.
- 10 2. Inhibidor multicitinasa para su uso según la reivindicación 1, en el que el inhibidor multicitinasa es nintedanib o una sal del mismo.
- 15 3. Inhibidor multicitinasa para su uso según la reivindicación 1, en el que el inhibidor multicitinasa es lenvatinib o una sal del mismo.
- 20 4. Inhibidor multicitinasa para su uso según la reivindicación 1, en el que la enfermedad relacionada con el ojo, el trastorno relacionado con el ojo o el procedimiento quirúrgico relacionado con el ojo se selecciona del grupo que consiste en transparencia corneal comprometida, formación de cicatrices corneales, formación de cataratas secundarias, cirugía de filtración de glaucoma, procedimientos e implantes quirúrgicos oculares, queratectomía fotorrefractiva, queratomileusis *in situ* con láser, formación y contracción de membranas prerretinianas y epirretinianas, vitreorretinopatía proliferativa, retinopatía diabética proliferativa, edema macular diabético, fibrosis subretiniana/formación de cicatrices subretinianas, gliosis retiniana, formación de membranas coroideas, degeneración macular asociada a la edad y oclusión venosa retiniana.
- 25 5. Inhibidor multicitinasa para su uso según la reivindicación 1, en el que la enfermedad relacionada con el ojo, el trastorno relacionado con el ojo o el procedimiento quirúrgico relacionado con el ojo se selecciona del grupo que consiste en transparencia corneal comprometida, formación de cicatrices corneales, formación de cataratas secundarias, cirugía de filtración de glaucoma, procedimientos e implantes quirúrgicos oculares, queratectomía fotorrefractiva, queratomileusis *in situ* con láser, formación y contracción de membranas prerretinianas y epirretinianas, vitreorretinopatía proliferativa, fibrosis subretiniana/formación de cicatrices subretinianas, gliosis retiniana y formación de membranas coroideas.
- 30 6. Inhibidor multicitinasa para su uso según la reivindicación 1, en el que la enfermedad relacionada con el ojo, el trastorno relacionado con el ojo o el procedimiento quirúrgico relacionado con el ojo se selecciona del grupo que consiste en transparencia corneal comprometida, formación de cicatrices corneales, queratectomía fotorrefractiva y queratomileusis *in situ* con láser.
- 35 7. Inhibidor multicitinasa para su uso según la reivindicación 1, en el que la enfermedad relacionada con el ojo, el trastorno relacionado con el ojo o el procedimiento quirúrgico relacionado con el ojo se selecciona del grupo que consiste en formación de cataratas secundarias, cirugía de filtración de glaucoma y procedimientos e implantes quirúrgicos oculares.
- 40 8. Inhibidor multicitinasa para su uso según la reivindicación 1, en el que la enfermedad relacionada con el ojo, el trastorno relacionado con el ojo o el procedimiento quirúrgico relacionado con el ojo se selecciona del grupo que consiste en formación y contracción de membranas prerretinianas y epirretinianas, vitreorretinopatía proliferativa, fibrosis subretiniana/formación de cicatrices subretinianas, gliosis retiniana y formación de membranas coroideas.
- 45 9. Inhibidor multicitinasa para su uso según la reivindicación 1, en el que el método comprende administrar el inhibidor multicitinasa al sujeto mediante administración tópica, administración intraocular, administración intravítrea, administración intralesional, inyección subconjuntival, inyección subtenoniana, administración mediante gotas oftálmicas, administración mediante aerosoles, administración mediante adhesivos, administración mediante implantes o administración intracanalicular.
- 50

Fig. 1 Área de vasos sanguíneos de córnea total (mm<sup>2</sup>)

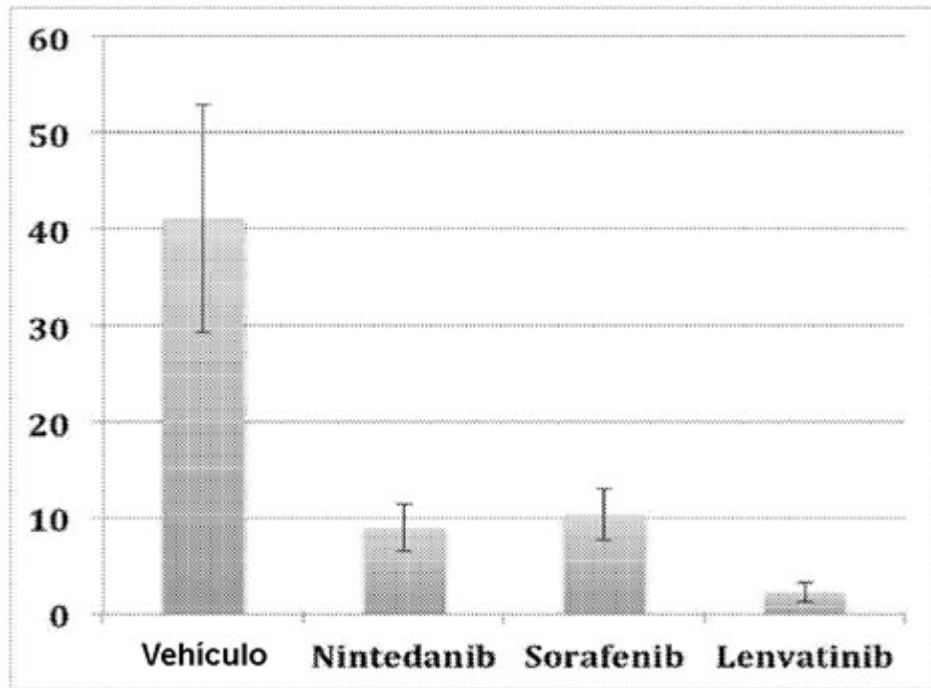


Fig. 2 Hallazgos histológicos en modelo de fibrosis de sutura corneal

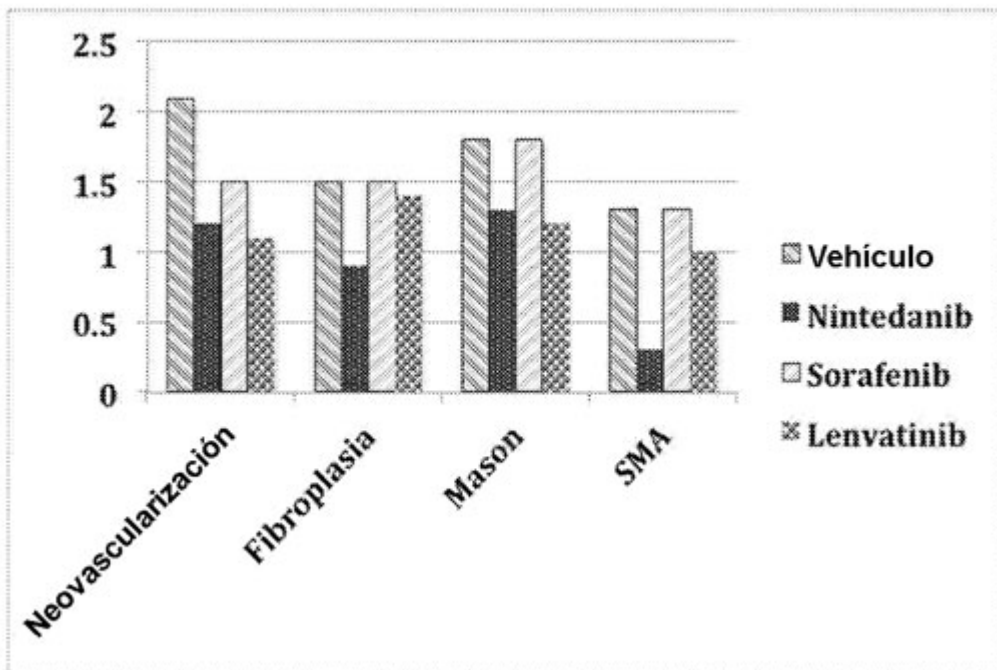


Fig. 3 Una ampolla representativa tratada con sorafenib el día 4.

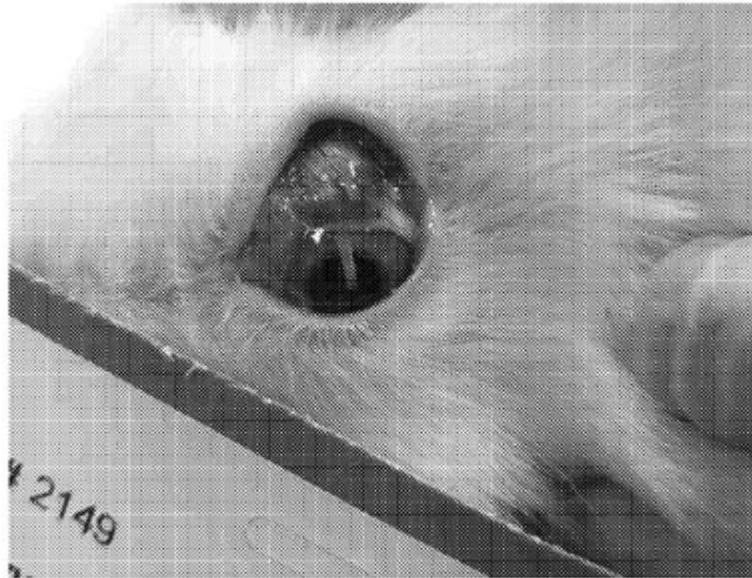
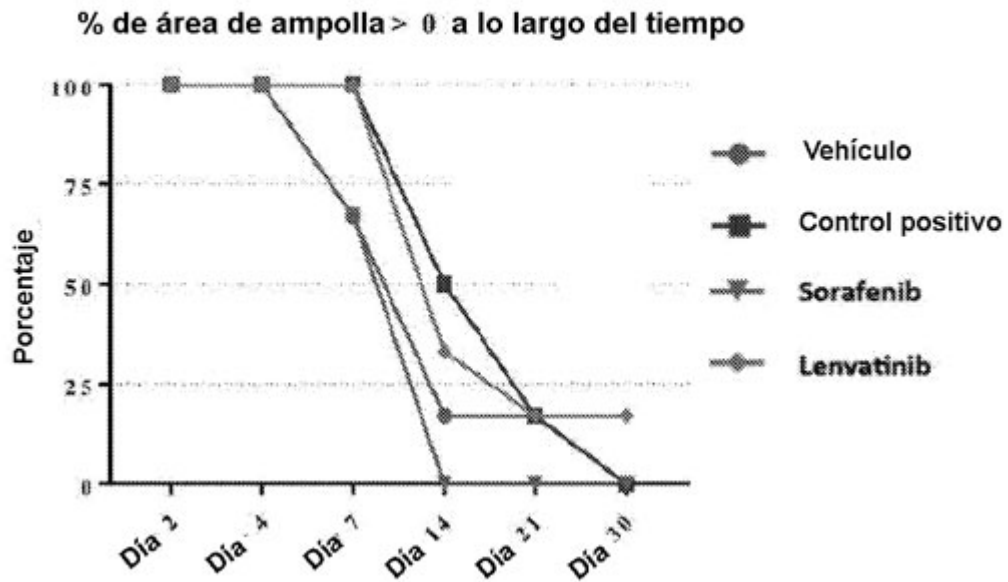


Figura 4. Efecto del tratamiento sobre la supervivencia de la ampolla durante 30 días después de la cirugía de filtración de glaucoma en conejos.



**Fig. 5 Expresión de ARNm de TGF beta1 en modelo de herida dérmica de conejo**

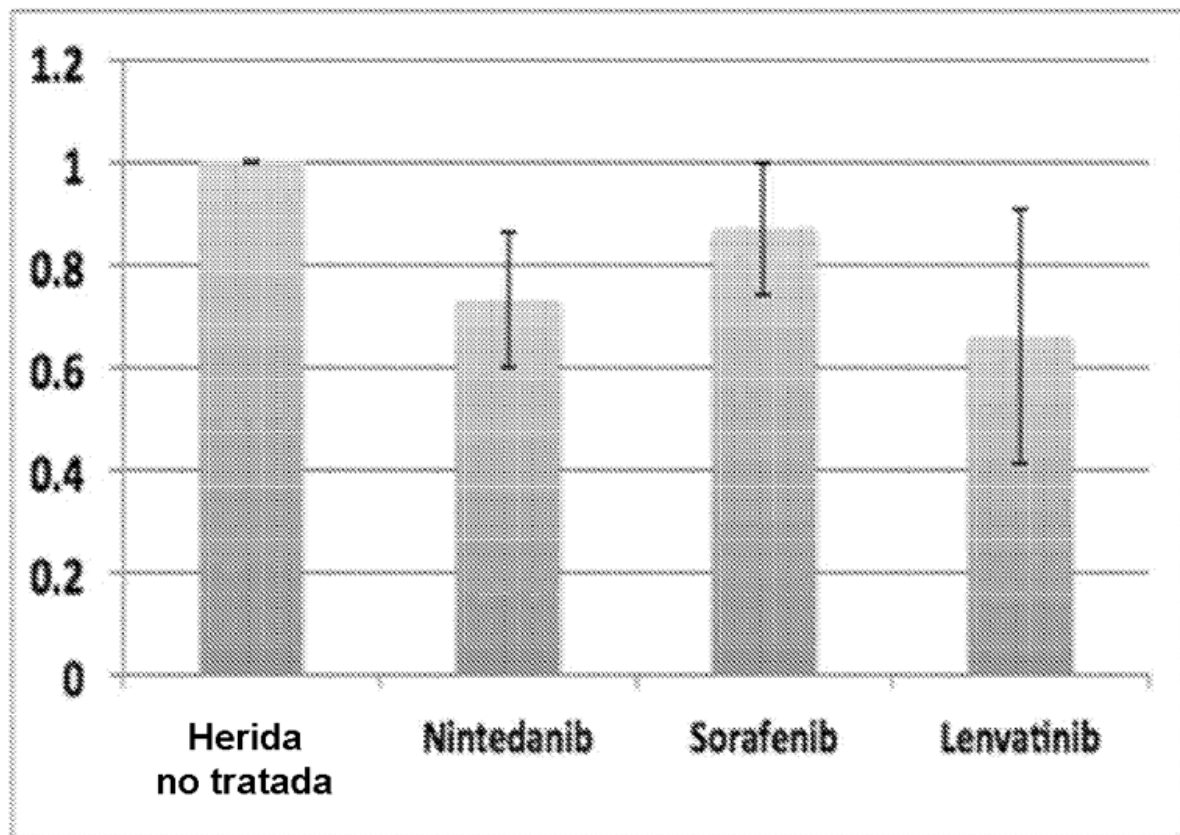
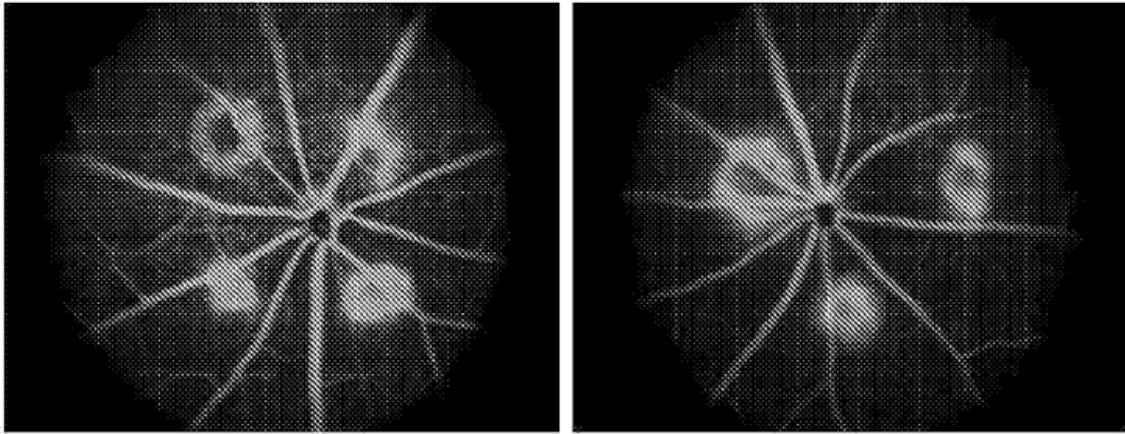


Fig. 6 Imágenes representativas de dos semanas tras láser en ratones.

A. Angiografía de fondo de ojo con fluoresceína.



B. Isolectina B4



C. Isolectina B4/DAPI

