

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 368 299**

51 Int. Cl.:

A61K 31/00 (2006.01)

A61K 31/138 (2006.01)

A61K 31/18 (2006.01)

A61K 31/222 (2006.01)

A61K 31/404 (2006.01)

A61K 31/4045 (2006.01)

A61K 31/4704 (2006.01)

A61K 31/5377 (2006.01)

A61K 31/36 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08838691 .7**

96 Fecha de presentación: **16.10.2008**

97 Número de publicación de la solicitud: **2187878**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **26.05.2010**

54

Título: **USO DE UN BETA-BLOQUEANTE PARA LA FABRICACIÓN DE UN MEDICAMENTO PARA EL TRATAMIENTO DE HEMANGIOMAS.**

30

Prioridad:
19.10.2007 EP 07291273
21.11.2007 US 989507 P

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.11.2011

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.11.2011

73

Titular/es:
Université Bordeaux Segalen
146, rue Léo Saignat
33076 Bordeaux Cedex, FR y
Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux

72

Inventor/es:
LÉAUTÉ-LABRÈZE, Christine;
DUMAS DE LA ROQUE, Éric;
TAIEB, Alain y
THAMBO, Jean-Benoît

74

Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

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).

ES 2 368 299 T3

DESCRIPCIÓN

Uso de un beta-bloqueante para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de hemangiomas

Campo técnico

5 La presente invención se refiere al uso de propranolol o una sal farmacéutica del mismo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de hemangiomas, por ejemplo de hemangiomas infantiles.

En el siguiente texto, las referencias en negrita entre paréntesis son referencias adjuntas a los documentos y publicaciones citados también en la lista de referencias tras la parte de "Ejemplos" de la memoria descriptiva.

Técnica anterior

10 Los hemangiomas capilares infantiles (HI) en los niños se reconocen más comúnmente en la piel y el hígado. Los HI, hemangiomas capilares infantiles (HI) son los tumores de tejido blando más comunes de la infancia, produciéndose en del 4 al 10% de los niños menores de 1 año de edad tal como se da a conocer en Frieden IJ *et al*, "Infantile hemangiomas: current knowledge, future directions, Proceedings of a research workshop on infantile hemangiomas", *Pediatr Dermatol* 2005; 22: 383-406 [1].

15 Un HI se compone de una mezcla compleja de tipos celulares que incluyen una mayor parte de células endoteliales, asociadas con pericitos, células dendríticas y mastocitos. Las células endoteliales derivadas de hemangiomas proliferativos son de origen clonal tal como se da a conocer en el documento [1] y por Bielenberg D.R. *et al*, "Progressive growth of infantile cutaneous hemangiomas is directly correlated with hyperplasia and angiogenesis of adjacent epidermis and inversely correlated with expression of the endogenous angiogenesis inhibitor", *INF-beta. Int. J. Oncol.*; 14:401-408 [10], Boye E, *et al*. Clonality and altered behaviour of endothelial cells from hemangiomas. *J Clin Invest* 2001; 107:745-52 [9] que sugieren que los hemangiomas surgen de la expansión clonal de una célula precursora endotelial, que podría derivarse de una célula madre hematopoyética tal como se da a conocer en [1].

25 Las células endoteliales del HI presentan un fenotipo molecular distintivo caracterizado por positividad inmunoquímica en el documento [1]: indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO) y LYVE-1 ambos positivos en HI en fase temprana y se pierden durante la maduración debido a un fenotipo vascular sanguíneo, transportador de glucosa 1 (Glut-1), Ag Y de Lewis (Le Y), FcRyII, merosina, CCR6, y CD 15.

30 Los reguladores de la involución y el crecimiento de HI todavía se entienden escasamente, pero se ha demostrado que durante su fase de crecimiento, están implicados dos factores pro-angiogénicos principales: factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) y factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) que están presentes *in situ*, pero también en la sangre y la orina tal como se da a conocer en el documento [1] y en Mancini A.J. *et al*, "Proliferation and apoptosis within juvenile capillary hemangiomas", *A.m. J. Dermatopathol.* 1996; 18:505-514 [11].

Además, la hibridación *in situ* para el receptor de VEGF (VEGF-R) en HI proliferativo ha mostrado que los VEGF-R están uniformemente distribuidos en la totalidad del hemangioma y no ensamblados aún en vasos sanguíneos.

35 Durante la fase de crecimiento del HI, estudios histológicos han mostrado que las células tanto endoteliales como intersticiales están en estado proliferativo (tinción con MIB1 fuertemente positiva) tal como se da a conocer en Mancini *et al*. Proliferation and apoptosis within juvenile capillary hemangiomas. *Am J Dermatopathol* 1996; 18:505-14 [10], y por otra parte, durante la fase de involución las células presentan marcadores de apoptosis tal como se da a conocer en [10] y Razon M.J. *et al*, "Increased apoptosis coincides with onset of involution of infantile hemangioma", *Microcirculation* 1998; 5:189-195 [11]. Una hipótesis para explicar la apoptosis de las células endoteliales en los hemangiomas capilares es la expresión de ICAM-1 en la superficie celular, pero una posibilidad alternativa puede ser la pérdida de factores estimuladores tales como VEGF [1].

45 El sistema adrenérgico es el principal regulador de la función cardíaca y vascular. Las células endoteliales capilares expresan receptores beta-2-adrenérgicos tal como se da a conocer en D'Angelo G. *et al*, "cAMP-dependant protein kinase inhibits the mitogenic action of vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factor in capillary endothelial cells by blocking Raf activation", *J. Cell Biochem.* 1997; 67:353-366 [13] que modulan la liberación de NO, produciendo vasodilatación dependiente del endotelio. Además, los receptores beta-adrenérgicos pertenecen a la familia de receptores acoplados a proteína G y cuando se activan por catecolaminas adrenérgicas pueden promover una serie de rutas de transducción de señales intracelulares tal como se da a conocer en Iaccarino G, *et al*. Ischemic neoangiogenesis enhanced by beta2-adrenergic receptors overexpression: a novel role for the endothelial adrenergic system. *Circ Res* 2005; 97:1182-1189 [12] y [13]. La estimulación de receptores beta puede inducir modificaciones de las rutas de transducción de señales de factores angiogénicos tales como VEGF o bFGF tal como se da a conocer en [13]. Se ha demostrado que el aumento de los niveles de AMPc inhibe la proliferación

de células endoteliales inducida por VEGF y bFGF. Las elevaciones mediadas por receptores beta-adrenérgicos o farmacológicas en AMPc bloquean la activación inducida por el mitógeno de la ruta de señalización de MAPK que conduce al bloque de la actividad de Raf-1 mediante una actividad PKA aumentada [13].

- 5 Además, se ha demostrado que el bloqueo beta puede inducir apoptosis de células endoteliales capilares cultivadas tal como se da a conocer en Sommers Smith S.K. *et al.*, "Beta blockade induces apoptosis in cultured capillary endothelial cells", *In Vitro Cell Dev. Biol. Anim.* 2002; 38: 298-304 [14].

El documento WO 97/40830 expone la hipótesis, estableciendo un paralelismo con los tumores malignos, de que una terapia anti-VEGF usando inhibidores de PKC- β podría ser eficaz como terapia usando interferón α -2a o podría evaluarse como terapia de rescate en el caso de que fallase la terapia con interferón α -2a.

- 10 Lutgendorf *et al.* ("Stress-related mediators stimulate vascular endothelial growth factor secretion by two ovarian cancer cell lines". *Clinical Cancer Research: an official journal of the American association for cancer research*. Vol. 9, n.º 12, 2003-10-01, 4514-4521) describen el efecto de propranolol sobre la secreción de VEGF inducida experimentalmente por catecolamina mediante inyección o mediante la inducción de estrés.

- 15 Thaker *et al.* ("Chronic stress promotes tumor growth and angiogenesis in a mouse model of ovarian carcinoma". *Nature medicine*, vol. 12, n.º 8, 2006-08, 939-944) describen el hecho de que propranolol bloquea el aumento del crecimiento tumoral inducido por isoproterenol.

- 20 Papathanassiou ("Novel inhibitors of angiogenesis and their mechanism(s) of action", 158 PP. AVAIL.: UMI, ORDER n.º DA9828828 FROM: DISS. ABSTR. INT., B 1998, 59(4), 1454, 1998) enseña que los agonistas de los receptores β -adrenérgicos, tales como isoproterenol, están asociados con inflamación que puede desempeñar un papel en el cáncer.

El documento WO 2006/015830 describe el uso de compuestos que tienen un efecto agonista del receptor β 3-adrenérgico, y en particular el uso de compuestos que tienen tanto un efecto agonista del receptor β 3-adrenérgico como un efecto antagonista del receptor β 1/ β 2-adrenérgico, para tratar enfermedades arteriales.

- 25 Razon *et al.* ("Increased apoptosis coincides with onset of involution of infantile hemangioma". *MICROCIRCULATION (PHILADELPHIA)*, vol. 5, n.º 2-3, septiembre de 1998, páginas 189-195) describe la hipótesis según la cual un agente que induce apoptosis de células endoteliales proliferativas podría ser un tratamiento eficaz para un hemangioma potencialmente mortal, y expone la hipótesis según la cual los agentes antiangiogénicos que inducen apoptosis en el endotelio podrían atenuar la fase proliferativa y acelerar el proceso de involución en un hemangioma peligroso.

- 30 Smith *et al.* ("Beta blockade induces apoptosis in cultured capillary endothelial cells". *IN VITRO CELLULAR AND DEVELOPMENTAL BIOLOGY ANIMAL*, vol. 38, n.º 5, mayo de 2002, páginas 298-304) enseña que propranolol induce apoptosis de células endoteliales maduras en cultivo mediante un mecanismo de bloqueo de receptores beta-adrenérgicos.

- 35 Baghestanian M. ("The role of beta-adrenergic blockers as antihypertensive medication in patients with peripheral arterial disease" *ZEITSCHRIFT FÜR GEFÄSSMEDIZIN* 2006 AT, vol. 3, n.º 2, 2006, páginas 11-16) describe los efectos de un beta-bloqueante en el tratamiento de EAP (enfermedades arteriales periféricas) y prevé el hecho de que los beta-bloqueantes no selectivos, tales como propranolol, tienen un efecto vasoconstrictor periférico que es perjudicial en pacientes con arteritis.

- 40 Brem *et al.* ("the combination agents to inhibit primary tumor growth and metastasis" *JOURNAL OF PEDIATRIC SURGERY* 1993 US, vol. 28, n.º 10, 1993, páginas 1253-1257) describe el efecto de la administración conjunta de dos inhibidores de la angiogénesis: AGM-1470 e interferón- α , sobre metástasis y tumores de pulmón primarios murinos.

- 45 A pesar de su curso autolimitado benigno, los HI comunes rara vez son responsables durante su fase proliferativa de complicaciones locales tales como úlcera o hemorragia. El denominado HI alarmante dado a conocer, por ejemplo, en Enjolras O. *et al.* "Management of alarming hemangiomas in infancy: a review of 25 cases", *Pediatrics* 1990; 85:491-8 [4] puede afectar las funciones vitales o sensoriales, especialmente cuando se presenta respectivamente en las vías respiratorias altas o las zonas orbitarias.

- 50 Además, los HI producen una desfiguración cosmética al menos transitoria que desencadena morbilidad psicológica en primer lugar en los padres y más tarde en los niños afectados tal como se da a conocer en el documento [1] y en Tanner J.L. *et al.*, "Growing up with a facial hemangioma: parent and child coping and adaptation, *Pediatrics*", 1998; 101:446-452 [2].

Se usan corticosteroides sistémicos o intralesionales como tratamientos de primera línea para lesiones problemáticas durante la fase proliferativa tal como se da a conocer en Bennett ML *et al*, Oral corticosteroid use is effective for cutaneous hemangiomas, An evidence-based evaluation, Arch. Dermatol. 2001; 137 :1208-13 [3].

- 5 Sin embargo, incluso a altas dosificaciones (de 2 a 5 mg/kg de peso corporal/día), las tasas de respuesta al tratamiento oscilan entre el 30 y el 60% tal como se da a conocer en los documentos [1], [3] y [4]. Los efectos adversos son normalmente transitorios y limitados tales como facies cushingoide, irritabilidad, inhibición del crecimiento, pero puede producir miocardiopatía hipertrófica más preocupante.

- 10 Otras opciones de tratamiento incluyen interferón alfa-2a y 2b (del 40 al 50% de respuesta completa con una dosificación de 1-3 mU/m²/día) (millones de unidades por m²) pero se ha notificado un riesgo de nefrotoxicidad en los niños menores de 1 año de edad, tal como se da a conocer en los documentos [1] y [5]; también se usa vincristina por sus propiedades antimitóticas tal como se da a conocer en el documento [1] pero sus aspectos negativos bien conocidos son neuropatía periférica, estreñimiento y toxicidad hematológica.

Además, los nuevos factores antiangiogénicos tales como Avastatin están contraindicados en niños de corta edad debido a sus efectos secundarios.

- 15 Aún más, debido a que la mayoría de los pacientes que reciben el tratamiento son lactantes o niños pequeños, la tolerancia del paciente para los compuestos conocidos se vuelve de primordial importancia.

Por tanto, existen necesidades de compuestos alternativos, más eficaces y menos tóxicos para el tratamiento de HI, en particular de hemangiomas capilares infantiles. La presente invención cumple estas y otras necesidades.

Descripción de la invención

- 20 Propranolol es un beta-bloqueante no selectivo bien tolerado usado comúnmente en niños de corta edad para indicaciones cardiológicas tal como se da a conocer por Villain E *et al* en Low incidence of cardiac events with beta-blocking therapy in children with long QT syndrome, Eur. Heart J. 2004; 25:1405-11 [6], por Fritz K.I. *et al*, Effect of beta-blockade on symptomatic dexamethasone-induced hypertrophic obstructive cardiomyopathy in premature infants: three case reports and literature review. J Perinatol 1998;18: 38-44 [7], y por Kilian K. en Hypertension in neonates causes and treatments, J. Perinat Neonatal Nurs. 2003; 17:65-74 [8]. Pero nunca se ha experimentado con este beta-bloqueante y los beta-bloqueantes en general ni se han dado a conocer para un uso en el tratamiento de hemangiomas.

- 25 Los presentes inventores son los primeros que han experimentado y que han observado que los beta-bloqueantes pueden ser muy eficaces para controlar el crecimiento de los HI e incluso para tratar los HI. Las observaciones y los resultados experimentales se facilitan en la presente solicitud.

Por consiguiente, en un primer aspecto, la presente invención proporciona el uso de propranolol o una sal farmacéutica del mismo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de hemangiomas.

- 35 "Beta-bloqueante" se refiere también en el presente documento a un agente de bloqueo de receptores beta, un agente de bloqueo de receptores beta-adrenérgicos, un agente de bloqueo beta, un agente de beta-bloqueo o un agente de bloqueo de receptores adrenérgicos beta o cualquier otra denominación que indique un producto químico que inhibe la unión de agonistas, naturales o artificiales, a receptores beta-adrenérgicos de cualquier tipo (beta-1, beta-2, beta-3 u otros).

- 40 El beta-bloqueante puede ser un beta-bloqueante no selectivo, un beta-bloqueante beta-1-selectivo, una mezcla de antagonistas alfa-1/beta-adrenérgicos, un beta-bloqueante beta-2-selectivo. El beta-bloqueante también puede ser una mezcla de dos o más beta-bloqueantes.

Se dan a conocer ejemplos de beta-bloqueante en Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, undécima edición, capítulo 10, págs. 271-295, 2006 [19].

- 45 Se da a conocer un beta-bloqueante no selectivo, por ejemplo, alprenolol, bucindolol, carteolol, carvedilol, labetalol, levobunolol, medroxalol, mepindolol, metipranolol, nadolol, oxprenolol, penbutolol, pindolol, propafenona (la propafenona es un fármaco que bloquea los canales de sodio que también es un antagonista de los receptores beta-adrenérgicos), propranolol, sotalol, timolol o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, o una mezcla de los mismos.

Se da a conocer un beta-bloqueante beta-1 selectivo seleccionado por ejemplo del grupo que comprende acebutolol, atenolol, betaxolol, bisoprolol, celiprolol, esmolol, metoprolol, nebivolol.

El beta-bloqueante también puede tener una actividad simpaticomimética intrínseca como acebutolol, betaxolol, carteolol, carvedilol, labetalol, oxprenolol, penbutolol, pindolol, propranolol.

- 5 El beta-bloqueante según la presente invención es propranolol o una sal farmacéuticamente del mismo, por ejemplo L o D-propranolol o una mezcla de los mismos. La mezcla puede ser una mezcla de L y D-propranolol, con una cantidad de los mismos de 0:1 a 1:0, por ejemplo 1:1. Una sal farmacéuticamente aceptable del propranolol puede ser clorhidrato de propranolol o cualquier otra preparación de propranolol, ya cambie o altere la preparación o no las propiedades farmacocinéticas o la metabolización del propranolol.

Según la presente invención, el medicamento puede ser un medicamento para tratar hemangiomas capilares infantiles.

- 10 Se dan a conocer otros tumores vasculares, por ejemplo los seleccionados del grupo que comprende hemangiomas (es decir, hemangioma epiteloide, hemangioma sinusoidal, hemangioma fusocelular), angioma en penacho, hemangioendoteliomas (es decir, hemangioendotelioma kaposiforme), hemangioma en el síndrome de von Hippel-Lindau, angiofibroma y angiolipoma en la enfermedad de Boumeville, granuloma piogénico, angiosarcomas, por ejemplo sarcoma de Kaposi, malformaciones arteriovenosas expansivas, proliferación vascular asociadas a tumores.
- 15 Referencia M. Wassef and coll. Vascular tumours and malformations, classification, pathology and imaging. Ann Chir Plast Esth 2006; 51:263-281 [20] da a conocer la clasificación anatomopatológica de estos tumores de proliferación activa.

- 20 El medicamento puede estar en cualquier forma que pueda administrarse a un ser humano o un animal. Puede llevarse a cabo la administración directamente, es decir, puro o sustancialmente puro, o tras el mezclado del propranolol o una sal farmacéutica del mismo con un medio y/o un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Según la presente invención, el medicamento puede ser un jarabe o una disolución inyectable.

Según la presente invención, el medicamento puede ser una suspensión oral. Según la presente invención, el medicamento está en una forma seleccionada del grupo que comprende una pastilla, un polvo, un gránulo, un aerosol, una crema, un parche transdérmico y un colirio.

- 25 Se da a conocer un medicamento para la administración oral seleccionado del grupo que comprende una formulación líquida, una forma de dosificación efervescente oral, un polvo oral, un sistema de múltiples partículas, una forma de dosificación bucodispersable.

- 30 Se da a conocer un medicamento para la administración oral, seleccionado del grupo que comprende una disolución, un jarabe, una suspensión, una emulsión y gotas orales. Se da a conocer un medicamento en la forma de una forma de dosificación efervescente oral, seleccionada del grupo que comprende comprimidos, gránulos, polvos. Se da a conocer un polvo oral o un sistema de múltiples partículas, en una forma seleccionada del grupo que comprende perlas, gránulos, minicomprimidos y microgránulos. Se da a conocer un medicamento en la forma de una forma de dosificación bucodispersable, seleccionada del grupo que comprende comprimidos bucodispersables, obleas liofilizadas, películas delgadas, un comprimido masticable, un comprimido y una cápsula, un chicle médico.

- 35 Se da a conocer un medicamento para las vías bucal y sublingual, por ejemplo seleccionado del grupo que comprende comprimidos bucales o sublinguales, preparación mucoadhesiva, pastillas para chupar, gotas buco-mucosas y aerosoles.

- 40 Se da a conocer un medicamento para administración tópica-transdérmica, por ejemplo seleccionado del grupo que comprende pomadas, crema, gel, loción, parche y espuma. Se da a conocer un medicamento para la administración nasal, por ejemplo seleccionado del grupo que comprende gotas nasales, aerosol nasal, polvo nasal.

Se da a conocer un medicamento para la administración rectal, por ejemplo un supositorio o una cápsula de gelatina dura.

Se da a conocer un medicamento para la administración parenteral, por ejemplo administración subcutánea, intramuscular, intravenosa.

- 45 El experto en la técnica entiende claramente que el término "forma" tal como se usa en el presente documento se refiere a la formulación farmacéutica del medicamento para su uso práctico. Por ejemplo, se da a conocer una forma seleccionada del grupo que comprende una forma inyectable (por ejemplo como Avlocardyl® 5 mg/ml), jarabe (por ejemplo como Efferalgan® 3%), suspensión oral (por ejemplo como Efferalgan® 3%), una pastilla (por ejemplo como Dafalgan® 1 g), polvo (por ejemplo como Doliprane® 100 mg), gránulos (por ejemplo como Zoltum® 10 mg), aerosol, parche transdérmico (por ejemplo como Cordipatch® 5 mg/24 h) o forma local (crema, loción, colirio) (por
- 50

ejemplo como crema Dermoval®, como loción Betneval® y como colirio Chibroxine® respectivamente).

En estos ejemplos, el beta-bloqueante, propranolol, puede añadirse o puede sustituir el/los principio(s) activo(s) de dichos medicamentos.

5 El vehículo farmacéuticamente aceptable puede ser cualquier vehículo conocido farmacéuticamente usado para la administración de un beta-bloqueante a un ser humano o a un animal, dependiendo del sujeto. Por ejemplo, este vehículo puede seleccionarse del grupo que comprende por ejemplo el monometoxi-polietilenglicol (por ejemplo como en Viraferonpeg®) o liposoma (por ejemplo como en Ambizome®).

10 El medio puede ser cualquier medio conocido usado para la administración de un beta-bloqueante a un ser humano o a un animal. Por ejemplo, este medio puede seleccionarse del grupo que comprende por ejemplo Cremophor (por ejemplo como en Sandimmun®) o celulosas (por ejemplo como en Avlocardyl® LP 160mg).

Se selecciona la forma farmacéutica del fármaco con respecto al ser humano o al animal que va a tratarse. Por ejemplo, para un niño o un bebé, se prefiere un jarabe o una inyección. Puede llevarse a cabo la administración con una pipeta graduada en peso.

15 Según la presente invención, el medicamento puede comprender cualquier dosis farmacéuticamente aceptable y eficaz del beta-bloqueante para tratar hemangiomas. Por ejemplo, el medicamento puede comprender una dosis que permita una administración de 1 a 5 mg/kg de peso corporal al día, por ejemplo de 2 a 4 mg/kg de peso corporal/día.

Los hemangiomas y los beta-bloqueantes, así como las formulaciones que pueden utilizarse son tal como se han definido anteriormente.

20 La administración puede realizarse usando cualquier vía farmacéutica conocida por el experto y que es útil para administrar un beta-bloqueante. Anteriormente se han proporcionado ejemplos de formas de medicamento que pueden administrarse. Por ejemplo, la administración puede realizarse mediante inyección directa del beta-bloqueante. Esta vía de administración, así como un jarabe, se prefiere por supuesto para bebés.

25 La administración puede definirse de modo que permita el suministro de una dosis farmacéuticamente aceptable y eficaz para el tratamiento de hemangiomas. Por ejemplo, la administración puede comprender una dosis de 1 a 5 mg/kg de peso corporal al día, por ejemplo de 2 a 4 mg/kg de peso corporal/día. La administración puede llevarse a cabo con una dosis o con una pluralidad de dosis al día.

Los inventores de la presente solicitud demuestran claramente de forma experimental un fuerte efecto antiangiogénico en hemangiomas capilares infantiles (HI) mediante el uso de un beta-bloqueante.

30 Búsquedas adicionales llevadas a cabo por los presentes inventores con respecto al hemangioma muestran que los receptores adrenérgicos beta2 están presentes en la superficie de las células endoteliales del hemangioma (véanse los ejemplos a continuación). Esto confirma los resultados obtenidos con la presente invención, proporciona explicaciones fisiopatológicas y confirma el mecanismo de acción de los beta-bloqueantes en el marco de la presente invención. Esto confirma también la relación entre la eficacia de propranolol y su actividad como beta-bloqueante.

35 Puesto que los nuevos factores angiogénicos de la técnica anterior tales como Avastatin están contraindicados en niños de corta edad debido a su efecto secundario, el uso de propranolol según la presente invención constituye una alternativa segura a los corticosteroides sistémicos, e incluso al interferón o la vincristina.

El propranolol es un beta-bloqueante no selectivo con débil actividad simpaticomimética intrínseca, y su espectacular efecto terapéutico sobre el HI podría explicarse mediante tres mecanismos:

40 1. un efecto vasoconstrictor periférico que induce hipoxia celular, el propranolol es responsable de la vasoconstricción periférica, y este efecto es inmediatamente visible sobre el HI que se ha tratado.

2. una disminución de la expresión de los genes de VEGF y bFGF a través de la regulación por disminución de la ruta de Raf/MAPK, o la ruta del HIF (Giatromanolaki A, Arvanitidou V, Hatzimichael A, Simopoulos C, Sivridis E [17]. The HIF-2alpha/VEGF pathway activation in cutaneous capillary hemangiomas (Shyu KG, Liou JY, Wang BW, Fang WJ, Chang H. Cardiovedilol prevents cardiac hypertrophy and overexpression of hypoxia-inducible factor-1alpha and vascular endothelial growth factor in pressure-overloaded rat heart. J Biomed Sci. 2005 ; 12 : 409-420[18]).

45 3. un efecto de desencadenamiento de apoptosis sobre las células endoteliales capilares.

En los resultados experimentales dados a conocer a continuación en el presente documento, se observó un cambio en el color de rojo intenso a púrpura, asociado con un ablandamiento palpable de la lesión en bebés que presentaban un HI. Esto efecto podría inducir una hipoxia crónica del hemangioma responsable de una detención de la proliferación de células endoteliales.

- 5 Sin embargo, en las experimentaciones del inventor, la mejora progresiva del HI en tratamiento con propranolol sugiere fuertemente una acción sostenida sobre factores de crecimiento proliferativos.

No está claro si a este respecto las dianas del tratamiento son las propias células endoteliales, u otras células tales como las células intersticiales o los mastocitos. El tercer mecanismo posiblemente implicado para explicar la involución del HI es una apoptosis temprana de las células endoteliales inducida por el bloqueo beta.

- 10 Sin embargo, el nuevo crecimiento del hemangioma en dos de los casos presentados, cuando se detuvo el tratamiento durante la fase proliferativa del HI, no respalda esta hipótesis. Además, en el segundo caso, los inventores no encontraron marcadores de células apoptóticas mediante inmunohistoquímica usando anticuerpos frente a las caspasas 3 y 8.

- 15 Además, el uso de beta-bloqueantes está ampliamente extendido en la actualidad en pacientes neonatos o infantiles con una buena tolerancia en enfermedades cardíacas como el síndrome del QT largo tal como se muestra en el documento de Villain E. *et al*, "Low incidence of cardiac events with beta-blocking therapy in children with long QT syndrome", Eur. Heart J. 2004; 25:1405-1411 [6], cardiomiopatías hipertróficas tal como se muestran en el documento de Fritz K.I. *et al*, "Effect of beta-blockade on symptomatic dexamethasone-induced hypertrophic obstructive cardiomyopathy in premature infants: three case reports and literature review", J. Perinatal 1998; 18:38-44 [7] o hipertensión tal como se muestra en el documento de Kilian K, *et al*, "Hypertension in neonates causes and treatments", J. Perinat. Neonatal Nurs 2003; 17: 65-74 [8].

Esta invención se ilustra adicionalmente mediante los siguientes ejemplos con respecto a los dibujos adjuntos.

Breve descripción de los dibujos

- 25 - La figura 1 es una imagen que muestra el aspecto de un hemangioma después de 4 semanas de un tratamiento anterior con esteroides sistémicos, antes del comienzo del tratamiento con propranolol.
- La figura 2 es una imagen que muestra el aspecto del hemangioma sólo siete días después del inicio del tratamiento con propranolol según la presente invención.
- 30 - La figura 3 es una imagen que muestra los resultados experimentales a los 6 meses de edad cuando continúa tratándose al niño según la presente invención y antes que se detuviese el tratamiento anterior con esteroides sistémicos desde hace 2 meses.
- La figura 4 es una imagen que muestra los resultados experimentales a los 9 meses del tratamiento con propranolol según la presente invención.
- La figura 5 es una imagen obtenida con un método de inmunohistoquímica que muestra que se expresan receptores beta2 en las células endoteliales del HI
- 35 - La figura 6 es una imagen obtenida con un método de inmunohistoquímica que muestra que se expresan HIF1 alfa (tinción de color rojo) en las células endoteliales del HI.

Ejemplos

Ejemplo 1: primeros experimentos según la presente invención

- 40 Un bebé de sexo masculino que presentaba un HI que afectaba a la pirámide nasal. A los 2 meses de edad, se introdujo un tratamiento con esteroides sistémicos debido a la disnea asociada con el tabique nasal y necrosis de la columela. Después de un tratamiento de un mes a 3 mg/kg de peso corporal/día (mg/kg/día) de prednisolona, se estabilizó el hemangioma, pero evolucionó la necrosis nasal. Puesto que el lactante se negó progresivamente a tomar comprimidos de prednisolona, se introdujo una dosificación equivalente de betametasona en gotas (0,5mg/kg/día). A los 4 meses de edad, el hemangioma había dejado de crecer y se habían curado las úlceras intranasales.

Sin embargo, el niño volvió a una visita de control con taquicardia a de 180 a 200 pulsos por minuto, asociada con un soplo cardíaco sistólico. Una ecografía cardíaca mostró una miocardiopatía hipertrófica obstructiva, lo que justificó

una disminución de la dosificación de betametasona desde 3 hasta 2 mg/kg de peso corporal/día (mg/kg/día).

Por tanto, se ha iniciado un tratamiento con un beta-bloqueante, propranolol (nombre químico de la IUPAC: (2RS)-1-[1-metiletil]amino]-3(naftalen-1-iloxi)propan-2-ol) a 3 mg/kg/día. Se administró el propranolol como una cápsula que contenía polvo de propranolol comercial. El día después del inicio del tratamiento con propranolol, el hemangioma cambió de color de rojo intenso a púrpura, y se ablandó. Se sustituyó la betametasona por prednisolona que se fue disminuyendo progresivamente y se detuvo 6 semanas después del inicio del tratamiento con propranolol.

A pesar de la disminución de los esteroides sistémicos, el HI continuó mejorando. A los 5 meses de edad, cuando se había detenido el tratamiento con esteroides, no pudo observarse ni un rebote en cuanto al tamaño ni la coloración del HI. A los 14 meses de edad, el niño todavía seguía con tratamiento con propranolol, y la cardiomiopatía hipertrófica inducida por los corticosteroides había remitido. El HI era completamente plano, con la persistencia únicamente de sólo telangiectasias cutáneas con un fondo de piel decolorada amarilla anaranjada, y secuelas de necrosis intranasal y de la columela.

Ejemplo 2 : segundo experimento según la presente invención

El segundo lactante, un trillizo de sexo masculino, nacido a las 30 semanas, presentaba desde el nacimiento una HI con aspecto de placa que afectaba a toda la extremidad superior derecha y las zonas del párpado superior y frontoparietal derecha.

Al mes de edad, se desarrolló un componente subcutáneo en 3 zonas que incluían el párpado superior, la región parotídea y el pliegue axilar. Debido al riesgo de privación visual se inició el tratamiento con prednisolona a 3 mg/kg/día.

Sin embargo, después de 2 semanas de tratamiento, la situación no estaba bajo control y se decidió aumentar la dosis de prednisolona a 5 mg/kg/día durante 2 semanas.

A pesar de este régimen, el HI continuó agrandándose y a los 2 meses de edad era imposible la apertura del párpado, estando deformado el lado derecho de la cara por un enorme tumor tal como se muestra en la figura 1 adjunta 1. Además, el pliegue axilar estaba ocupado por un componente de HI tumoral que medía clínicamente 5 cm de diámetro.

La IRM no mostró anomalías intracerebrales, pero reveló que el HI afectaba a las zonas orbitarias extra e intraconal y era responsable de exoftalmia. Además, la IRM mostró que el HI parotídeo estaba en continuidad con un componente intracervical compresivo que condujo a desviación traqueal y esofágica; la masa axilar medía 26 mm x 45 mm x 40 mm y se extendía hasta el vértice pulmonar derecho.

Una ecografía cardiaca mostró un aumento del gasto cardiaco.

Se redujo la dosificación de prednisolona hasta 3 mg/kg/día y se inició un tratamiento con propranolol, 2 mg/kg/día, según la presente invención.

Como en el lactante anterior (véase el ejemplo 1 anteriormente), las lesiones se ablandaron sólo 12 horas después del inicio del tratamiento con propranolol.

Siete días después, fue posible una apertura ocular espontánea debido a una espectacular reducción del tamaño del componente subcutáneo del hemangioma tal como se muestra en la imagen presentada en la figura 2 adjunta. Las masas parotídea y axilar se redujeron considerablemente de tamaño.

Estos resultados inesperados obtenidos con la presente invención han de compararse con los presentados en la imagen de la figura 1 adjunta que muestra el aspecto del hemangioma antes del inicio del tratamiento con propranolol y después de 4 semanas de un tratamiento con esteroides sistémicos de la técnica anterior (2 semanas a 3 mg/kg/d y 2 semanas a 5 mg/kg/d).

Se redujo progresivamente la dosis del tratamiento con prednisolona mientras que el HI continuaba mejorando. A los 3 meses de edad, se obtuvo una muestra de biopsia en el brazo, que mostró un HI típico. Las células endoteliales demostraron una escasa tinción con el anticuerpo monoclonal MIB-1, lo que sugiere una débil actividad proliferativa para un HI en un lactante de corta edad.

Con el fin de evaluar un posible papel proapoptótico de propranolol, se realizó un análisis inmunohistoquímico usando anticuerpos monoclonales anti caspasa-3 y 8 escindidas (Ozyme, Saint Quentin en Yvelines, Francia), pero no demostró inmunotinción positiva [15].

Se detuvo el tratamiento con prednisolona a los 4 meses de edad, sin ningún rebote, pero una interrupción de 3 días del tratamiento con propranolol fue responsable de un leve aumento de tamaño del hemangioma en las zonas parotídeas y del párpado superior.

La nueva introducción del tratamiento con propranolol a 2mg/kg/día fue satisfactoria después de sólo 24 horas.

- 5 A los 6 meses de edad, la apertura ocular fue satisfactoria y no se observó una afectación visual importante, los componentes hemangiomatosos subcutáneos axilar y parotídeo no eran palpables y el HI había desaparecido considerablemente tanto en la cara como en el brazo.

- 10 La figura 3 proporciona una imagen que muestra estos resultados experimentales a los 6 meses de edad cuando el niño continúa tomando 2 mg/kg/d de propranolol pero se detuvo el tratamiento con esteroides sistémicos hace 2 meses. No se observó el componente subcutáneo del hemangioma, y el componente cutáneo había desaparecido considerablemente. Además, el niño no padece ninguna afectación visual.

A los 9 meses de edad, se detuvo el tratamiento, sin ningún nuevo crecimiento del HI tal como se muestra en la imagen de la figura 4 adjunta.

Ejemplo 3: tercera experimentación según la presente invención

- 15 Un bebé de sexo femenino presentaba un HI periocular derecho observado por primera vez a las 3 semanas de edad y localizado en el canto interno. A los 2 meses de edad, el componente subcutáneo del HI se extendió a la órbita y limitó la apertura del párpado superior.

La ecografía Doppler mostró un HI que medía 32 mm de diámetro y 12 mm de grosor.

- 20 Después de haberse obtenido el consentimiento informado de los padres, se trató con 2 mg/kg/día de propranolol. Se observó el aplanamiento de la lesión en 12 horas, seguido por una mejora progresiva.

La ecografía de control, realizada 7 días después del inicio del tratamiento con propranolol, mostró una disminución del tamaño del HI : 21 mm de diámetro frente a 32 mm y 6 mm de grosor frente a 12 mm, sin ninguna modificación hemodinámica.

- 25 Se detuvo el tratamiento con propranolol después de un mes, pero se observó un nuevo aumento de tamaño del HI, que necesitó que se reanudase el tratamiento.

A los 7 meses de edad el HI era plano y se había desvanecido su color, y la ecografía no pudo identificar ningún componente subcutáneo.

Se detuvo el tratamiento con propranolol a los 8 meses sin ningún rebote del hemangioma.

- 30 Se han tratado con propranolol otros siete niños que padecían hemangiomas y se obtuvieron resultados similares. No se ha observado ningún fracaso del tratamiento con la presente invención. Esta clase de resultados no se lograron nunca en la técnica anterior, por ejemplo con corticoterapia o con interferón.

- 35 En resumen, estos ejemplos muestran claramente que el propranolol tiene un fuerte efecto antioangiogénico en el HI. Puesto que los nuevos factores antiangiogénicos tales como Avastatin están contraindicados en niños de corta edad debido a sus efectos secundarios, el propranolol puede constituir una alternativa segura y razonable a los corticosteroides sistémicos, e incluso al interferón o la vincristina.

Ejemplo 4 : Comentarios y resultados experimentales adicionales

- 40 Los inventores han observado como descubrimiento fortuito que el propranolol, un beta-bloqueante no selectivo bien tolerado usado comúnmente en niños de corta edad para indicaciones cardiológicas, puede controlar la fase de crecimiento de HI tal como se notifica en Léauté-Labrèze C, Dumas de la Roque E, Hubiche T, Boralevi F, Thambo JB. Propranolol for severe hemangiomas of infancy. New Engl J Med 2008, 358; 24: 2650-51 [16]. Una posible explicación de la proporción por sexos sesgada, y de que la activación de la ruta del HIF-2-alfa y la posterior sobreexpresión de VEGF por las células endoteliales están implicados en la patogénesis de los hemangiomas capilares cutáneos (Giatromanolaki *et al.*, The HIF-2alpha/VEGF pathway activation in cutaneous capillary haemangiomas. Pathology 2005:149-51 [17]). Sorprendentemente, estudiando los beta-bloqueantes para el
- 45 tratamiento de hipertrofia cardíaca, Shyu *et al.* revelaron que el cardiovedilol revierte tanto la proteína como el ARNm de HIF-1-alfa y VEGF hasta los valores iniciales (Shyu *et al.*, Cardiovedilol prevents cardiac hypertrophy and overexpression of hypoxia-inducible factor-1alpha and vascular endothelial growth factor in pressure-overloaded rat

heart. J Biomed Sci. 2005; 12 :409-420 [18]). Se llevan a cabo búsquedas adicionales que examinan la cascada angiogénica posterior a los receptores beta-adrenérgicos *in vivo* e *in vitro* en HI y en posibles determinantes genéticos que influyen en el fenotipo del HI.

Histología e inmunohistoquímica

- 5 Se incluyeron biopsias de piel en parafina, se cortaron en secciones de 5 µm y se tiñeron con hematoxilina-eosina para evaluar la morfología general. Para visualizar la presencia del receptor alfa-2-adrenérgico y el nivel de expresión de HIF1-alfa, se incubaron las secciones respectivamente con anticuerpo monoclonal de conejo anti-receptor alfa2-adrenérgico humano 1:100 (PA1-20659, ABR, Golden, EE.UU.) o anticuerpo monoclonal de ratón anti-HIF1-alfa humano 1:1000 (ab8366, abcam, Cambridge, RU) durante la noche a 4°C. Como sistema secundario, se usó el sistema de peroxidasa del rábano picante Envision (K4002, K4000 Dako, Trappes, Francia) que potencia la sensibilidad de tinción dirigida contra conejo para el receptor alfa2-adrenérgico y ratón para HIF1-alfa. Se relevaron las secciones con aminoetilcarbámid (K3461, Dako, Trappes, Francia) y se contratiñeron con hematoxilina.

10 Los hallazgos inmunohistoquímicos preliminares mostraron que los receptores beta2 (figura 5 adjunta) se expresan en las células endoteliales del HI. HIF1 alfa (figura 6 adjunta) también se expresó en las células endoteliales del HI tal como se observó recientemente.

Lista de referencias

- [1] Frieden IJ, Haggstrom A, Drolet BA, Mancini AJ, Friedlander SF, Boon L, and coll. Infantile hemangiomas: current knowledge, future directions. Proceedings of a research workshop on infantile hemangiomas. *Pediatr Dermatol* 2005; 22:383-406.
- 20 [2] Tanner JL, Dechert MP, BA; Frieden IJ. Growing up with a facial hemangioma: parent and child coping and adaptation. *Pediatrics*. 1998; 101:446-452.
- [3] Bennett ML, Fleischer AB, Chamlin SL, Frieden IJ. Oral corticosteroid use is effective for cutaneous hemangiomas. An evidence-based evaluation. *Arch Dermatol* 2001 ; 137 :1208-13.
- 25 [4] Enjolras O, Riche MC, Merland JJ, Escande JP. Management of alarming hemangiomas in infancy: a review of 25 cases. *Pediatrics* 1990;85:491-8.
- [5] Ezekowitz RAB, Phil CBD, Mulliken JB, Folkman J. Interferon alfa-2a therapy for life-threatening hemangiomas of infancy. *New Engl J Med* 1992; 326: 1456-63.
- [6] Villain E, Denjoy I, Lupoglazoff JM, Guicheney P, Hainque B, Lucet V, Bonnet D. Low incidence of cardiac events with beta-blocking therapy in children with long QT syndrome. *Eur Heart J* 2004; 25: 1405-11.
- 30 [7] Fritz KI, Bhat AM. Effect of beta-blockade on symptomatic dexamethasone-induced hypertrophic obstructive cardiomyopathy in premature infants: three case reports and literature review. *J Perinatol* 1998; 18:38-44.
- [8] Kilian K. Hypertension in neonates causes and treatments. *J Perinat Neonatal Nurs* 2003; 17:65-74.
- [9] Boye E, Yu Y, Paranya G, Paranya G, Mulliken JB, Olsen BR, Bischoff J. Clonality and altered behaviour of endothelial cells from hemangiomas. *J Clin Invest* 2001;107:745-52.
- 35 [10] Mancini AJ, Smoller BR. Proliferation and apoptosis within juvenile capillary hemangiomas. *Am J Dermatopathol* 1996;18:505-14.
- [11] Razon MJ, Kraling BM, Mulliken JB, Bischoff J. Increased apoptosis coincides with onset of involution of infantile hemangioma. *Microcirculation* 1998; 5:189-95.
- 40 [12] Iaccarino G, Ciccarelli M, Soriento D, Galasso G, Campanile A, Santulli G, Cipolletta E, Cerullo V, Cimini V, Altobelli GG, Piscione F, Priante O, Pastore L, Chiarello M, Salvatore F, Koch WJ, Trimarco B. Ischemic neoangiogenesis enhanced by beta2-adrenergic receptors overexpression: a novel role for the endothelial adrenergic system. *Circ Res* 2005; 97:1182-1189.
- 45 [13] D'Angelo G, Lee H, Weiner RI. cAMP-dependant protein kinase inhibits the mitogenic action of vascular endothelial growth factor and fibroblast growth factor in capillary endothelial cells by blocking Raf activation. *J Cell Biochem* 1997; 67:353-366.

- [14] Sommers Smith SK, Smith DM. Beta blockade induces apoptosis in cultured capillary endothelial cells. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2002;38:298-304.
- [15] Chaturvedi V, Sitailo LA, Bodner B, Denning MF, Nickoloff BJ. Defining the caspase-containing apoptotic machinery contributing to cornification in human epidermal equivalents. *Exp Dermatol*. 2006 Jan;15 (1):14-22.
- 5 [16] Léauté-Labrèze C, Dumas de la Roque E, Hubiche T, Boralevi F, Thambo JB. Propranolol for severe hemangiomas of infancy. *New Engl J Med* 2008, 358; 24:2650-51.
- [17] Giatromanolaki A, Arvanitidou V, Hatzimichael A, Simopoulos C, Sivridis E. The HIF-2alpha/VEGF pathway activation in cutaneous capillary haemangiomas. *Pathology* 2005:149-51.
- 10 [18] Shyu KG, Liou JY, Wang BW, Fang WJ, Chang H. Cardiovedilol prevents cardiac hypertrophy and overexpression of hypoxia-inducible factor-1alpha and vascular endothelial growth factor in pressure-overloaded rat heart. *J Biomed Sci*. 2005 ; 12 : 409-420.
- [19] Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, undécima edición, capítulo 10, págs. 271-295, 2006.
- 15 [20] M. Wassef and coll. Vascular tumours and malformations, classification, pathology and imaging. *Ann Chir Plast Esth* 2006; 51:263-281.

REIVINDICACIONES

1. Uso de propranolol o una sal farmacéutica del mismo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de hemangiomas.
- 5 2. Uso según la reivindicación 1, en el que el medicamento es un medicamento para tratar hemangiomas capilares y/o hemangiomas capilares infantiles.
3. Uso según las reivindicaciones 1 ó 2, en el que el medicamento es un jarabe o una disolución inyectable.
4. Uso según las reivindicaciones 1 ó 2, en el que el medicamento es una suspensión oral.
5. Uso según las reivindicaciones 1 ó 2, en el que el medicamento está en una forma seleccionada del grupo que consiste en una pastilla, un polvo, un gránulo, un aerosol, una crema, un parche transdérmico y un colirio.
- 10 6. Propranolol o una sal farmacéutica del mismo para su uso en el tratamiento de hemangiomas.
7. Propranolol o una sal farmacéutica del mismo para su uso según la reivindicación 6 para tratar hemangiomas capilares y/o hemangiomas capilares infantiles.



FIGURA 1

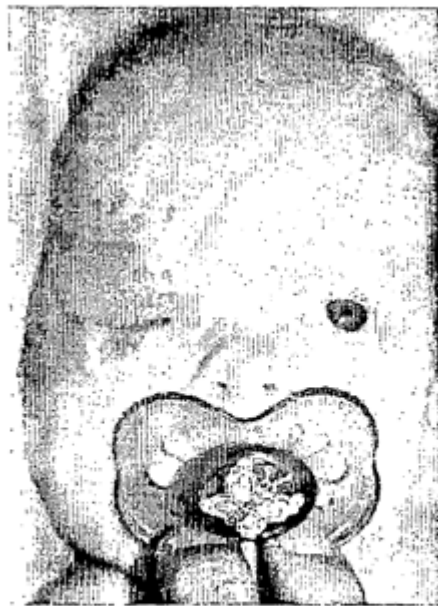


FIGURA 2



FIGURA 3



FIGURA 4



FIGURA 5



FIGURA 6