

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 433 661**

51 Int. Cl.:

A61K 31/44 (2006.01)
A61K 31/4412 (2006.01)
A61K 31/4985 (2006.01)
A61K 31/5025 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61K 31/519 (2006.01)
A61K 31/53 (2006.01)
A61P 9/12 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.04.2006 E 11168764 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2013 EP 2366393**

54 Título: **Roflumilast para el tratamiento de hipertensión pulmonar**

30 Prioridad:

19.04.2005 EP 05103147

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

12.12.2013

73 Titular/es:

**TAKEDA GMBH (100.0%)
Byk-Gulden-Strasse 2
78467 Konstanz , DE**

72 Inventor/es:

**BEUME, ROLF;
HATZELMANN, ARMIN;
MARX, DEGENHARD;
SCHUDT, CHRISTIAN;
TENOR, HERMANN;
EDDAHIBI, SAADIA y
ADNOT, SERGE**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 433 661 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

Roflumilast para el tratamiento de hipertensión pulmonar.

Campo técnico

La invención se refiere al uso de Roflumilast, sus sales farmacéuticamente aceptables, su N-Óxido y las sales farmacéuticamente aceptables del último para el tratamiento preventivo de hipertensión pulmonar.

Antecedentes de la invención

En la solicitud de patente internacional WO 9837894 se desvela la asociación de inhibidores de la fosfodiesterasa con agonistas de adenilato ciclasa o agonistas de guanilato ciclasa para el tratamiento de, entre otros, hipertensión pulmonar. En la solicitud de patente internacional WO9509636 se desvela un método para tratar la hipertensión pulmonar que comprende administrar por vía endotraqueal o por vía endobronquial a un individuo una cantidad eficaz de un fármaco seleccionado del grupo que consiste en nucleótidos cíclicos, inhibidores de la fosfodiesterasa, precursores de óxido nítrico, donadores de óxido nítrico y análogos de óxido nítrico, disminuyendo de ese modo la resistencia vascular pulmonar. En Cardiovasc. Rev & Rep 2.002; 23, págs. 274-279 Martin R. Wilkins et al revisan el uso de inhibidores de la fosfodiesterasa en el tratamiento de hipertensión pulmonar. En Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 288: L103-L115, 2.005 se describe que los inhibidores de cAMP - fosfodiesterasa potencian los efectos de los análogos de prostaciclina en la remodelación vascular pulmonar hipóxica. En Current Opinion in Investigational Drugs 2.005 6 (3), págs. 283-288 Wang D et al describen nuevas propuestas para usar inhibidores de PDE4 para tratamiento antihipertensor. En Current Opinion in Investigational Drugs 2.002 3 (8) Reid P describe que Roflumilast se metaboliza in vivo a Roflumilast-N-óxido y que los dos compuestos ser comportan de manera similar en la mayoría de las condiciones de ensayo. En la solicitud de patente internacional WO03070279 se desvelan formas farmacéuticas orales que contienen un inhibidor de PDE4 – ejemplificadas de manera exclusiva por composiciones que comprenden Roflumilast - para el tratamiento y la prevención de todas las enfermedades consideradas como tratables o evitables por el uso de inhibidores de PDE4, incluyendo COPD.

Se define hipertensión pulmonar (HP) por una presión de arteria pulmonar media (PAP) > 3,3 kPa (25 mm de Hg) en reposo o > 4,0 kPa (30 mg de Hg) con ejercicio. Según las directrices actuales en diagnóstico y tratamiento de hipertensión pulmonar comunicadas por la Sociedad Europea de Cardiología en 2.004 (Eur Heart J 25: 2.243-2.278; 2.004) las formas clínicas de HP se clasifican como: (1) hipertensión arterial pulmonar (PAH, por sus siglas en inglés), (2) HP asociada a enfermedades cardíacas del ventrículo izquierdo, (3) HP asociada a enfermedades respiratorias pulmonares y / o hipoxia, (4) HP debida a enfermedad trombótica y/o embólica crónica, (5) HP de otro origen (por ej., sarcoidosis). El grupo (1) comprende por ej., PAH idiopática y familiar así como PAH en el contexto de enfermedad del tejido conjuntivo (por ej., esclerodermia, CREST), cortocircuitos sistémico-pulmonares congénitos, hipertensión portal, VIH, absorción de fármacos y toxinas (por ej., anorexígenos). La HP que ocurre en COPD se asignó al grupo (3). La muscularización de pequeñas arteriolas pulmonares (menores que 500 µm de diámetro) está aceptada extensamente como un denominador patológico común de PAH (Grupo 1), sin embargo también puede ocurrir en otras formas de HP tales como basadas en COPD o enfermedad trombótica y/o tromboembólica. Otras características patoanatómicas en HP son engrosamiento de la íntima basado en migración y proliferación de (mio)fibroblastos o células del músculo liso y excesiva generación de matriz extracelular, lesión endotelial y/o proliferación e infiltrados celulares inflamatorios perivasculares. Junto, la remodelación de vasculatura arterial pulmonar distal da como resultado resistencia vascular pulmonar aumentada, insuficiencia cardíaca del lado derecho consecutiva y muerte. Mientras el tratamiento preparatorio y más medidas generales tales como anticoagulantes orales, diuréticos, suministro de digoxina u oxígeno se enumeran aún por directrices actuales no se espera que estos remedios interfieran con causas o mecanismos de remodelación arterial pulmonar. Algunos pacientes con PAH también se pueden beneficiar de antagonistas de Ca⁺⁺ - en particular aquéllos con respuesta aguda a vasodilatadores. Las propuestas terapéuticas innovadoras desarrolladas durante la última década consideraban anomalías moleculares en particular formación aumentada de endotelina-1, generación reducida de prostaciclina (PGI₂) y actividad de eNOS alterada en vasculatura de PAH. La endotelina-1 que actúa vía receptores de ET_A es mitogénica para células del músculo liso arteriales pulmonares y provoca vasoconstricción aguda. Recientemente ha sido homologada en la UE y los Estados Unidos el antagonista de ET_A/ET_B oral Bosentán para el tratamiento de PAH después de que el compuesto demostrara mejoras en los parámetros clínicos tales como PAP media, PVR o ensayo caminando 6 min. Sin embargo, Bosentán aumentó las enzimas hepáticas y los ensayos de hígado regulares son obligatorios. En la actualidad los antagonistas de ET_A selectivos tales como sitaxsentán o ambrisentán están bajo escrutinio.

Como otra estrategia en el tratamiento de PAH surge la sustitución de prostaciclina deficiente por análogos de PGI₂ tales como epoprostenol, treprostnil, beraprost oral o iloprost. La prostaciclina sirve como un freno a la mitogénesis excesiva de células del músculo liso vascular que actúan aumentando la generación de cAMP. La prostaciclina intravenosa (epoprostenol) mejoró significativamente las tasas de supervivencia en hipertensión pulmonar idiopática así como la capacidad de ejercicio y fue homologada en Norteamérica y algunos países europeos a mediados de los años 90. Sin embargo, debido a su corta semivida se tiene que administrar epoprostenol por infusión intravenosa continua que - aunque factible - es incómoda, complicada y cara.

Además, son frecuentes casos adversos debido a efectos sistémicos de prostaciclina. Análogos de prostaciclina alternativos son treprostinil, homologado recientemente en los Estados Unidos para tratamiento de PAH y suministrado por infusión subcutánea continua y beraprost, el primer análogo de PGI₂ biológicamente estable y oralmente activo, que ha sido homologado para tratamiento de PAH en Japón. Su perfil terapéutico pareció más favorable en pacientes con PAH idiopática comparado con otras formas de hipertensión pulmonar y son frecuentes efectos secundarios ligados a vasodilatación sistémica después de la administración de beraprost y dolor local en el sitio de la infusión intravenosa bajo tratamiento de treprostinil. La administración del análogo de prostaciclina iloprost por la vía inhalatoria fue homologada recientemente en Europa. Sus efectos beneficiosos sobre la capacidad de ejercicio y los parámetros hemodinámicos se tienen que equilibrar a una frecuencia de dosificación más bien alta que comprende 6-12 ciclos de inhalación al día a partir de dispositivos apropiados.

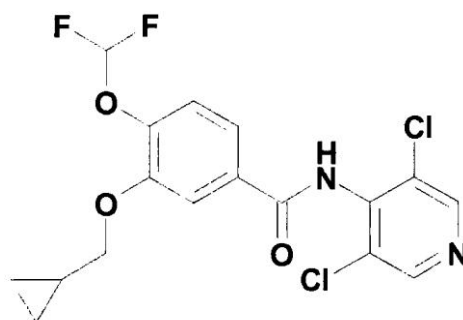
Las consecuencias funcionales de la formación endotelial de óxido nítrico alterada como se indica en la hipertensión arterial pulmonar se pueden superar mediante inhibidores selectivos de fosfodiesterasa-5 (PDE5) que se expresa en células de músculo liso de la arteria pulmonar. Por consiguiente, se demostró que el inhibidor de PDE5 selectivo sildenafil mejoraba la hemodinámica pulmonar y la capacidad de ejercicio en PAH.

La mayoría de estos nuevos tratamientos se aplica principalmente a la función de las células del músculo liso, sin embargo, además de los fibroblastos vasculares pulmonares, se considera que las células endoteliales pero también macrófagos perivasculares y linfocitos T contribuyen al desarrollo de la hipertensión pulmonar.

A pesar de las diferentes propuestas terapéuticas mencionadas anteriormente la necesidad médica para aliviar la carga de la enfermedad en la hipertensión pulmonar es alta. Es por lo tanto un objeto de la presente invención preparar composiciones farmacéuticas disponibles para el tratamiento preventivo de la hipertensión pulmonar, que superen algunas o todas las desventajas ya mencionadas.

Descripción de la invención

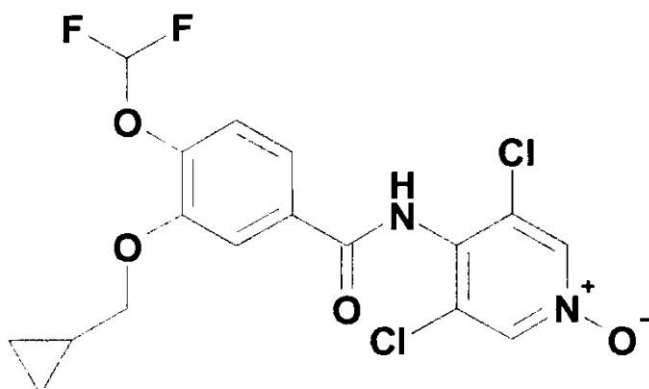
El tratamiento de la hipertensión pulmonar se puede conseguir sorprendentemente por el uso de un compuesto de fórmula 1.1



(1.1)

25

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y/o un compuesto de fórmula 1.2



(1.2)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 El compuesto de fórmula 1.1 tiene la denominación común internacional (DCI) Roflumilast [3-ciclo-propilmetoxi-4-difluorometoxi-N-(3,5-dicloropirid-4-il)benzamida].

El compuesto de fórmula 1.2 es Roflumilast-N-Óxido [3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxi-N-(3,5-dicloro-1-oxido-piridin-4-il)benzamida].

- 10 La preparación de Roflumilast, sus sales farmacéuticamente aceptables y su N-Óxido así como el uso de estos compuestos como inhibidores de PDE4 se describe en la solicitud de patente internacional WO9501338.

- 15 Las sales incluidas dentro del término "sales farmacéuticamente aceptables" de compuestos de las fórmulas 1.1 y 1.2 se refieren a sales no tóxicas de estos compuestos que se preparan en general haciendo reaccionar una base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado o haciendo reaccionar un ácido con una base orgánica o inorgánica adecuada. Se puede hacer mención particular de los ácidos inorgánicos y orgánicos farmacéuticamente aceptables utilizados de costumbre en farmacia. Los adecuados son en particular sales de adición de ácidos solubles en agua e insolubles en agua con ácidos tales como, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido acético, ácido cítrico, ácido D-glucónico, ácido benzoico, ácido 2-(4-hidroxibenzoil)-benzoico, ácido butírico, ácido sulfosalicílico, ácido maleico, ácido láurico, ácido málico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido embónico, ácido esteárico, ácido toluenosulfónico, ácido metanosulfónico o ácido 1-hidroxi-2-naftoico. Como ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables con bases se pueden mencionar las sales de litio, sodio, potasio, calcio, aluminio, magnesio, titanio, amonio, meglumina o guanidinio.

- 25 Se entiende que los compuestos de las fórmulas 1.1 y 1.2 y sus sales farmacéuticamente aceptables también pueden estar presentes en la forma de sus solvatos farmacéuticamente aceptables y en particular en la forma de sus hidratos.

- 30 La expresión "hipertensión pulmonar" como se usa en la presente memoria comprende diferentes formas de hipertensión pulmonar. Ejemplos, que se pueden mencionar con respecto a esto son hipertensión arterial pulmonar idiopática; hipertensión arterial pulmonar familiar; hipertensión arterial pulmonar asociada a enfermedad vascular del colágeno, cortocircuitos sistémico-pulmonares congénitos, hipertensión portal, infección por VIH, fármacos o toxinas; hipertensión pulmonar asociada a trastornos de tiroides, enfermedad por almacenaje de glucógeno, enfermedad de Gaucher, telangiectasia hemorrágica hereditaria, hemoglobinopatías, trastornos mieloproliferativos o esplenectomía; hipertensión arterial pulmonar asociada a hemangiomatosis capilar pulmonar; hipertensión pulmonar persistente del recién nacido; hipertensión pulmonar asociada a enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad pulmonar intersticial, trastornos de hipoventilación alveolar motivada por hipoxia, respiración trastornada por el sueño motivada por hipoxia o exposición crónica a alta altitud; hipertensión pulmonar asociada a anomalías del desarrollo e hipertensión pulmonar debido a obstrucción tromboembólica de arterias pulmonares distales.

"Paciente" incluye tanto ser humano como otros mamíferos.

- 40 Ahora se ha encontrado que Roflumilast reduce la presión arterial pulmonar (PAP), la hipertrofia ventricular derecha y la muscularización distal en hipertensión pulmonar crónica inducida por hipoxia o monocrotalina en ratas, mientras que la presión arterial sistémica y la velocidad del pulso permanecían no afectadas.

Un aspecto de la presente invención es el uso de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en Roflumilast, una sal farmacéuticamente aceptable de Roflumilast, Roflumilast-N-Óxido y una sal farmacéuticamente aceptable de Roflumilast-N-Óxido para la producción de una composición farmacéutica para el tratamiento preventivo de hipertensión pulmonar.

- 45 Como se mencionó anteriormente, la expresión "hipertensión pulmonar" como se usa en la presente memoria comprende diferentes formas de hipertensión pulmonar. Otro aspecto de la presente invención por lo tanto es el uso de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en Roflumilast, una sal farmacéuticamente aceptable de Roflumilast, Roflumilast-N-Óxido y una sal farmacéuticamente aceptable de Roflumilast-N-Óxido para la producción de una composición farmacéutica para el tratamiento preventivo de una forma de hipertensión pulmonar seleccionada del grupo de hipertensión arterial pulmonar idiopática; hipertensión arterial pulmonar familiar; hipertensión arterial pulmonar asociada a enfermedad vascular del colágeno, cortocircuitos sistémico-pulmonares congénitos, hipertensión portal, infección por VIH, fármacos o toxinas; hipertensión pulmonar asociada a trastornos de tiroides, enfermedad por almacenaje de glucógeno, enfermedad de Gaucher, telangiectasia hemorrágica hereditaria, hemoglobinopatías, trastornos mieloproliferativos o esplenectomía; hipertensión arterial pulmonar asociada a hemangiomatosis capilar pulmonar; hipertensión pulmonar persistente del recién nacido; hipertensión

pulmonar asociada a enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad pulmonar intersticial, trastornos de hipoventilación alveolar motivada por hipoxia, respiración trastornada por el sueño motivada por hipoxia o exposición crónica a alta altitud; hipertensión pulmonar asociada a anomalías del desarrollo e hipertensión pulmonar debido a obstrucción tromboembólica de arterias pulmonares distales.

- 5 Se puede administrar Roflumilast, Roflumilast-N-óxido o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera a un paciente con necesidad de tratamiento en cualquiera de los modos de administración aceptados en general disponibles en la técnica. Los ejemplos ilustrativos de modos de administración adecuados incluyen suministro oral, intravenoso, nasal, parenteral, transdérmico y rectal así como administración por inhalación. El modo de administración más preferido de Roflumilast, Roflumilast-N-óxido o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera es oral. En otra realización preferida se administra Roflumilast, Roflumilast-N-óxido o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera por infusión intravenosa o inyección. En una realización más preferida se administra Roflumilast, Roflumilast-N-óxido o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera por inhalación.

- 15 Típicamente, el Roflumilast, Roflumilast-N-óxido o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera se administrará en la forma de una composición farmacéutica que comprenda Roflumilast, Roflumilast-N-óxido o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera junto con al menos un coadyuvante farmacéuticamente aceptable.

- 20 Las composiciones farmacéuticas se preparan por procedimientos que son conocidos de por sí y son familiares para el experto en la materia. Como composiciones farmacéuticas se emplean Roflumilast, Roflumilast-N-óxido o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera como tal, o preferiblemente junto con al menos un coadyuvante farmacéuticamente aceptable, por ej., en la forma de comprimidos, comprimidos recubiertos, cápsulas, comprimidos ovalados, supositorios, emulsiones, suspensiones, geles o disoluciones, estando el contenido en compuesto activo ventajosamente entre 0,1 y 99,9% en peso, preferiblemente 5 y 95% en peso, más preferiblemente 20 y 80% en peso y donde, por la elección apropiada de los coadyuvantes, se puede lograr una forma de administración farmacéutica (por ej., una forma de liberación controlada o una forma entérica) exactamente apta para el compuesto activo y/o para el comienzo deseado de acción).

- 25 El experto en la materia es familiar sobre la base de su conocimiento experto con coadyuvantes, que son adecuados para las formulaciones farmacéuticas deseadas. Como coadyuvantes farmacéuticamente aceptables, se puede usar cualquier coadyuvante que se sabe que es adecuado para preparar composiciones farmacéuticas. Ejemplos de los mismos incluyen disolventes, excipientes, dispersantes, emulsionantes, solubilizantes, formadores de gel, bases de pomada, antioxidantes, conservantes, estabilizantes, portadores, cargas, aglutinantes, espesantes, agentes complejantes, agentes disgregantes, tampones, activadores de la permeabilidad, polímeros, lubricantes, agentes de recubrimiento, propelentes, agentes de ajuste de la tonicidad, tensioactivos, colorantes, aromatizantes, edulcorantes y colorantes. En particular, se usan coadyuvantes de un tipo apropiado a la formulación deseada y el modo deseado de administración.

- 35 Se describen formas farmacéuticas orales adecuadas de Roflumilast y Roflumilast-N-Óxido en la solicitud de patente internacional WO03070279.

- 40 También se puede administrar Roflumilast o Roflumilast-N-Óxido en la forma de un aerosol; teniendo las partículas de aerosol de composición sólida, líquida o mixta preferiblemente un diámetro de 0,5 a 10 μm , ventajosamente de 2 a 6 μm . La generación de aerosol se puede realizar, por ejemplo, mediante atomizadores de chorro a presión o atomizadores ultrasónicos, mediante aerosoles medidos accionados por propelente o administración sin propelente de compuestos activos micronizados de cápsulas para inhalación.

Dependiendo del sistema inhalador usado, además de los compuestos activos las formas de administración contienen adicionalmente los coadyuvantes requeridos tales como, por ejemplo, propelentes (por ej., Frigen en el caso de aerosoles medidos), sustancias tensioactivas, emulsionantes, estabilizantes, conservantes, aromatizantes, cargas (por ej., lactosa en el caso de inhaladores de polvo) o, si es apropiado, más compuestos activos.

- 45 Para los fines de inhalación, está disponible un gran número de dispositivos con que se pueden generar y administrar aerosoles de tamaño de partícula óptimo, usando una técnica de inhalación que sea tan correcta como sea posible para el paciente. Además del uso de adaptadores (espaciadores, extensores) y envases con forma de pera (por ej., Nebulator®, Volumatic®), y dispositivos automáticos que emiten una pulverización por soplado (Autohaler®), para aerosoles medidos, en particular en el caso de inhaladores de polvo, está disponible una serie de disoluciones técnicas (por ej., Diskhaler®, Rotadisk®, Turbohaler® o el inhalador descrito en la Solicitud de Patente Europea EP0505321), usando las cuales se puede lograr una administración óptima de compuesto activo.

Es conocido para el experto en la materia que la dosis óptima de un compuesto activo puede variar como una función del peso corporal, la edad y el estado general del paciente y su comportamiento de respuesta al compuesto activo.

- 55 En el caso de administración oral de 3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxi-N-(3,5-dicloropirid-4-il)-benzamida (Roflumilast), la dosis diaria (para un paciente adulto) está en el intervalo de 50 - 1.000 μg , preferiblemente en el intervalo de 50 - 500 μg , más preferiblemente en el intervalo de 250 - 500 μg , preferiblemente por administración diaria una vez.

En el caso de administración intravenosa de 3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxi-N-(3,5-dicloropirid-4-il)benzamida (Roflumilast), la dosis diaria (para un paciente adulto) está en el intervalo de 50 - 500 µg, preferiblemente en el intervalo de 150 - 300 µg.

Farmacología

- 5 Reducción de presión arterial pulmonar (PAP), hipertrofia ventricular derecha y muscularización distal por el inhibidor de PDE4 selectivo Roflumilast en hipertensión pulmonar crónica inducida por hipoxia o monocrotalina en ratas.

Objetivo

- 10 El objetivo de la investigación farmacológica era caracterizar el efecto de Roflumilast administrado por vía oral a 0,5 mg kg⁻¹ d⁻¹ y 1,5 mg kg⁻¹ d⁻¹ en el incremento de PAP media y de la relación VD/VI+S así como muscularización arteriolar distal provocada por hipoxia crónica o monocrotalina (MCT) en ratas. La hipertensión pulmonar inducida por hipoxia o MCT en ratas representa modelos animales extensamente aceptados para estudiar el potencial de fármacos de investigación para invertir la hipertensión pulmonar crónica basada en remodelación vascular pulmonar. En el ajuste de MCT se administró Roflumilast en paradigmas tanto preventivos como curativos.

Animales

- 15 Se realizaron experimentos con ratas Wistar macho adultas (200-250 g) según directrices institucionales que acatan regulaciones nacionales e internacionales.

Hipertensión pulmonar hipóxica crónica

- 20 Se expusieron ratas a hipoxia crónica (10% de O₂) en una cámara ventilada (500 litros de volumen, Flufrance, Cachan, Francia). Para establecer el entorno hipóxico, se descargó en la cámara una mezcla de aire y nitrógeno ambiental y se recirculó el gas. Se vigiló el entorno dentro de la cámara usando un analizador de oxígeno (Oxiquant M, EnviTeC - Wismar, Alemania). Se retiró dióxido de carbono por autoindicación de gránulos de cal sodada. Se evitó el exceso de humedad por enfriamiento del circuito de recirculación. Se mantuvo la temperatura de la cámara a 22-24°C. Se abrió la cámara cada dos días durante 1 hora para limpiar las jaulas y reponer suministros de alimento y agua. Se mantuvieron ratas de control normóxicas en la misma habitación con idéntico ciclo de luz-oscuridad. Se asignaron de manera aleatoria las ratas expuestas a hipoxia crónica a tres grupos (8-10 animales por grupo): el primer grupo recibió Roflumilast a 0,5 mg kg⁻¹ d⁻¹, el segundo grupo recibió Roflumilast a 1,5 mg kg⁻¹ d⁻¹, el tercer grupo recibió vehículo (metocel). Un grupo no expuesto a hipoxia sirvió como control. Se administró roflumilast o vehículo una vez al día por alimentación forzada durante 15 días de exposición a hipoxia.

Hipertensión pulmonar inducida por la monocrotalina a (MCT).

- 30 Se asignaron ratas de manera aleatoria a tres grupos (8-10 animales en cada grupo): dos grupos recibieron Roflumilast 0,5 y 1,5 mg kg⁻¹ d⁻¹, respectivamente y un grupo recibió vehículo. En el paradigma de tratamiento preventivo se proporcionaron Roflumilast o vehículo una vez al día por alimentación forzada durante 21 días empezando inmediatamente después de una sola inyección subcutánea de MCT (60 mg kg⁻¹). Un grupo que no recibió MCT sirvió como control.
- 35 En una propuesta curativa se dejaron ratas sin tratar durante 21 días después de MCT (60 mg/kg s. c.) y después se dividieron de manera aleatoria en dos grupos, uno recibió roflumilast (1,5 mg/kg/d) p. o. y el otro vehículo, desde el día 21 al día 42.

Valoración de hipertensión pulmonar

- 40 Al final del periodo de tratamiento se anestesiaron ratas con pentobarbital sódico (60 mg/kg, i. p.). Se introdujo un catéter de polivinilo en la vena yugular derecha y se empujó por el ventrículo derecho a la arteria pulmonar. Se insertó otro catéter de polietileno en la arteria carótida derecha. Después de medir las presiones arterial pulmonar (PAP) y sistémica (SAP), se abrió el tórax y se retiró inmediatamente el pulmón izquierdo y se congeló en nitrógeno líquido. Se diseccionó el corazón y se pesó para cálculo del índice de hipertrofia ventricular derecha (relación de peso de la pared sin ventrículo derecho sobre la suma de septo más peso de la pared sin ventrículo izquierdo; VD/VI + S). Se fijó el pulmón derecho en el estado distendido con tampón de formalina. Después de tratamiento de rutina e incorporación de parafina, se tiñeron múltiples secciones de cada lóbulo con hematoxilina y eosina. En cada rata, se analizaron 60 arterias intraacinares y se clasificaron como musculares (completamente o parcialmente) o no musculares para valorar el grado de muscularización. Además, se evaluaron arterias completamente muscularizadas intraacinares para mediciones de espesor de pared medial que se calculó y se expresó como sigue: índice (%) =
- 50 (Diámetro externo - diámetro interno)/Diámetro externo x 100%.

Análisis estadísticos

Los datos se expresan como medias ± SEM. Se usó un ensayo de Mann-Whitney no paramétrico para comparaciones entre dos grupos. Se realizaron comparaciones de datos a diversos tiempos después de inyección de MCT o de diversos grupos de tratamiento usando un ensayo de Kruskal-Wallis no paramétrico seguido por

ensayo de Dunn cuando era significativo. Para comparar el grado de muscularización de vasos pulmonares entre grupos, se usó un ensayo de Mann-Whitney o uno de Kruskal-Wallis no paramétrico después de la clasificación ordinal de los vasos como no musculares, parcialmente musculares o completamente musculares.

Resultados

5 Efectos de Roflumilast en el desarrollo de hipertensión pulmonar hipóxica crónica.

Las ratas expuestas durante 15 días a hipoxia crónica desarrollaron hipertensión pulmonar asociada a hipertrofia ventricular derecha reflejada por un aumento en la presión de la arteria pulmonar media (PAP media) y la relación VD/VI+S. El inhibidor de PDE4 selectivo Roflumilast redujo la PAP media aumentada por hipoxia crónica a tanto 0,5 mg kg⁻¹ d⁻¹ como 1,5 mg kg⁻¹ d⁻¹ (p<0,05 frente a vehículo) de una manera dependiente de la dosis (Tabla 3). La presión arterial sistémica y la velocidad del pulso permanecieron no afectadas por el tratamiento. En paralelo, el aumento de la relación VD/VI+S después de hipoxia persistente se invirtió parcialmente por Roflumilast, en una extensión mayor a 1,5 mg kg⁻¹ d⁻¹ (p<0,01 frente a vehículo) comparado con 0,5 mg kg⁻¹ d⁻¹ (Tabla 3).

La muscularización aumentada de las arteriolas pulmonares distales puede causar aumento de PAP e hipertrofia ventricular derecha. Roflumilast redujo de manera significativa (p<0,001) la muscularización distal aumentada por hipoxia crónica durante 15 días con mayor eficacia a 1,5 mg kg⁻¹ d⁻¹ comparado con 0,5 mg kg⁻¹ d⁻¹ (Tabla 3).

Tabla 3: Efectos de roflumilast sobre hemodinámicas arteriales pulmonares y muscularización de arterias pulmonares distales en hipertensión arterial pulmonar inducida por hipoxia crónica en ratas.

	PAP [kPa (mm de Hg)]	VD/VI+S [%]	Muscularización [%]
Control	2,3±0,1 (17±1)	26±1,1	9±3
Hipoxia	4,1±0,3 (30,8±2,4)	42,6±1,6	57± 3
Hipoxia+0,5 mg/kg de Roflumilast	3,7±0,2 (28±1,8)	37,8±2,3	31,8±2
Hipoxia+1,5 mg/kg de Roflumilast	3,4±0,2 (25,5±1,8)	30,5±0,8	18,5±2

Efectos de Roflumilast en el desarrollo de hipertensión pulmonar inducida por MCT.

20 La hipertensión pulmonar grave producida por monocrotalina en ratas caracterizada por un aumento sustancial en PAP media, VD/VI+S y muscularización de arteriolas pulmonares distales después de 21 días. Roflumilast redujo la PAP media e hipertrofia ventricular derecha con mayor potencia a 1,5 mg kg⁻¹ d⁻¹ (p<0,01 frente a vehículo) frente a 0,5 mg kg⁻¹ d⁻¹ (p<0,05 frente a vehículo) (Tabla 4).

25 La mejora de estos parámetros hemodinámicos de circulación pulmonar se complementó por una disminución significativa dependiente de la dosis (p<0,001) en muscularización de arteriolas pulmonares distales causada por el inhibidor de PDE4 selectivo (Tabla 4).

Tabla 4: Efectos de Roflumilast en hemodinámicas arteriales pulmonares y muscularización de arterias pulmonares distales en hipertensión arterial pulmonar inducida por monocrotalina (MCT) en ratas.

	PAP [kPa (mm de Hg)]	VD/VI+S [%]	Muscularización [%]
Control	2,0±0,5 (14,8±4)	25±1,4	9±3
MCT	5,0±0,2 (37,6±1,5)	44,3±1,7	77,9±4,8
MCT+0,5 mg/kg de Roflumilast	3,9±0,2 (29,3±1,3)	38,9±1,6	62,7±5,4
MCT+1,5 mg/kg de Roflumilast	2,8±0,3 (21,4±2,0)	31,3±1,8	30,3±8,2

30 Conclusión

Roflumilast mejoró de manera dependiente de la dosis la hipertensión pulmonar crónica provocada por hipoxia o monocrotalina en ratas, mientras la presión arterial sistémica y la velocidad del pulso permanecieron no afectadas.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de un compuesto seleccionado del grupo que consiste en Roflumilast, una sal farmacéuticamente aceptable de Roflumilast, Roflumilast-N-Óxido y una sal farmacéuticamente aceptable de Roflumilast-N-Óxido para la producción de una composición farmacéutica para el tratamiento preventivo de hipertensión pulmonar.
2. Uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto es seleccionado del grupo que consiste en Roflumilast y una sal farmacéuticamente aceptable de Roflumilast.
3. Uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto es seleccionado del grupo que consiste en Roflumilast-N-Óxido y una sal farmacéuticamente aceptable de Roflumilast-N-Óxido.
- 10 4. Uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto es Roflumilast.
5. Uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto es Roflumilast-N-Óxido.
- 15 6. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la hipertensión pulmonar representa una forma de hipertensión pulmonar que es seleccionada del grupo de: hipertensión arterial pulmonar idiopática; hipertensión arterial pulmonar familiar; hipertensión arterial pulmonar asociada a enfermedad vascular del colágeno, cortocircuitos sistémico-pulmonares congénitos, hipertensión portal, infección por VIH, fármacos o toxinas; hipertensión pulmonar asociada a trastornos de tiroides, enfermedad por almacenamiento de glucógeno, enfermedad de Gaucher, telangiectasia hemorrágica hereditaria, hemoglobinopatías, trastornos mieloproliferativos o esplenectomía; hipertensión arterial pulmonar asociada a hemangiomatosis capilar pulmonar; hipertensión pulmonar persistente del recién nacido; hipertensión pulmonar asociada a enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad pulmonar intersticial,
- 20 trastornos de hipoventilación alveolar motivada por hipoxia, respiración trastornada por el sueño motivada por hipoxia o exposición crónica a alta altitud; hipertensión pulmonar asociada a anomalías del desarrollo e hipertensión pulmonar debido a obstrucción tromboembólica de arterias pulmonares distales.
- 25 7. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la hipertensión pulmonar representa una forma de hipertensión pulmonar que se selecciona del grupo de: hipertensión arterial pulmonar idiopática; hipertensión arterial pulmonar familiar; hipertensión arterial pulmonar asociada a enfermedad vascular del colágeno, cortocircuitos sistémico-pulmonares congénitos, hipertensión portal, infección por VIH, fármacos o toxinas; hipertensión pulmonar asociada a trastornos de tiroides, enfermedad por almacenamiento de glucógeno, enfermedad de Gaucher, telangiectasia hemorrágica hereditaria, hemoglobinopatías, trastornos mieloproliferativos o esplenectomía; hipertensión arterial pulmonar asociada a hemangiomatosis capilar pulmonar; hipertensión pulmonar persistente del recién nacido;
- 30 hipertensión pulmonar asociada a enfermedad pulmonar intersticial, trastornos de hipoventilación alveolar motivada por hipoxia, respiración trastornada por el sueño motivada por hipoxia o exposición crónica a alta altitud; hipertensión pulmonar asociada a anomalías del desarrollo e hipertensión pulmonar debido a obstrucción tromboembólica de arterias pulmonares distales.
- 35 8. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 6 ó 7, en el que la hipertensión pulmonar representa hipertensión arterial pulmonar idiopática.
9. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 6 ó 7, en el que la hipertensión pulmonar representa hipertensión arterial pulmonar familiar.
10. Uso según la reivindicación 6, en el que la hipertensión pulmonar representa hipertensión pulmonar asociada a enfermedad pulmonar obstructiva crónica.
- 40 11. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 6 ó 7, en el que la hipertensión pulmonar representa hipertensión arterial pulmonar asociada a enfermedad vascular del colágeno, cortocircuitos sistémico-pulmonares congénitos, hipertensión portal, infección por VIH, fármacos o toxinas.
- 45 12. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 6 ó 7, en el que la hipertensión pulmonar representa hipertensión pulmonar asociada a trastornos de tiroides, enfermedad por almacenamiento de glucógeno, enfermedad de Gaucher, telangiectasia hemorrágica hereditaria, hemoglobinopatías, trastornos mieloproliferativos o esplenectomía.