(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 648 819**

(51) Int. CI.:

A61K 31/00 (2006.01)
A61K 31/277 (2006.01)
A61K 31/336 (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01)
A61K 31/495 (2006.01)
A61K 31/55 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.05.2012 PCT/EP2012/058773**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **22.11.2012 WO12156311**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.05.2012 E 12720863 (5)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.08.2017 EP 2709602**

(54) Título: **Uso de la inhibición de la catepsina k para el tratamiento y/o profilaxis de hipertensión pulmonar y/o insuficiencia cardíaca**

(30) Prioridad:

16.05.2011 EP 11166229

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.01.2018

(73) Titular/es:

BAYER INTELLECTUAL PROPERTY GMBH (100.0%)
Alfred-Nobel-Strasse 10
40789 Monheim, DE

(72) Inventor/es:

GOLZ, STEFAN;
DELBECK, MARTINA;
MEIER, HEINRICH;
GEERTS, ANDREAS;
MONDRITZKI, THOMAS y
TRÜBEL, HUBERT

(74) Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

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

Uso de la inhibición de la catepsina k para el tratamiento y/o profilaxis de hipertensión pulmonar y/o insuficiencia cardíaca

La presente invención se refiere a inhibidores de la catepsina K, en particular a Odanacatib para su uso en un procedimiento para el tratamiento y/o la profilaxis de hipertensión pulmonar y/o insuficiencia cardíaca.

Antecedentes de la invención

Catepsina proteasas

Las catepsinas (con la abreviatura CTS) son proteasas: proteínas que degradan otras proteínas, que se encuentran en muchos tipos de células que incluyen las de todos los animales. Hay aproximadamente una docena de miembros de esta familia, que se distinguen por su estructura, mecanismo catalítico y por las proteínas que escinden. La mayoría de los miembros se activan por el bajo pH que se encuentra en los lisosomas. Por tanto, la actividad de esta familia se encuentra casi en su totalidad en estos orgánulos. Las catepsinas tienen un papel vital en la renovación de las células de mamíferos, por ejemplo, en la reabsorción ósea. Degradan polipéptidos y se distinguen por sus especificidades hacia los sustratos.

La secuencia completa del genoma humano, publicada en 2003, codifica un total de 11 cisteína catepsinas (B, H, L, S, C, K, O, F, V, X y W). Estas, también conocidas como proteasas lisosomales, pertenecen a la familia de las proteasas similares a la papaína.

Las catepsinas se describen como implicadas en: cáncer, ictus, enfermedad de Alzheimer, artritis, virus del Ébola, (se ha comprobado que la catepsina L, y a un menor grado la catepsina B, son necesarias para que el virus entre en las células huésped), EPOC, periodontitis crónica y diversos trastornos oculares: queratocono, desprendimiento de retina, degeneración macular relacionada con la edad, glaucoma y otros.

Catepsina K (CTSK)

La catepsina K (número de referencia del Genbank: NM_000396.3 (polinucleótido) y NP_000387.1 (polipéptido)), con la abreviatura CTSK, es una enzima que, en seres humanos, codifica el gen CTSK. La proteína codificada por este gen es una cisteína proteasa lisosomal implicada en la remodelación y reabsorción ósea. Esta proteína, que es un miembro de la familia de proteínas C1 peptidasa, se expresa predominantemente en osteoclastos.

La catepsina K humana está codificada aproximadamente por 12,1 kb de ADN genómico y se mapea en el cromosoma 1q21. El análisis de la secuencia de ADN genómico indica ocho exones y siete intrones localizados en el gen. El producto de la transcripción tiene una longitud de 1,7 kb. No se ha encontrado caja TATA/CAAT en el extremo 50 del comienzo de la iniciación transcripcional, pero como posibles elementos reguladores se identifican dos sitios de unión a Sp1 consenso y una región rica en GtC (42,5 %) en la región promotora. Análisis de extensión realizados con cebadores indican que el sitio de inicio de la transcripción se localiza en los 58 pb aguas abajo de la metionina. El inicio de la transcripción puede mejorarse por diversos supuestos elementos reguladores de la transcripción: AP1, AP3, H-APF-1, PU.1, ETS-1, PEA3, Mitf, TFE3. La catepsina K se sintetiza como una pre-proenzima inactiva que contiene 329 aminoácidos (aa) con un peso molecular de 38 ku. Incluye una secuencia señal de 15 aminoácidos, un propéptido de 99 aminoácidos y la organización global del sitio catalítico. El sitio catalítico consta de dos dominios plegados entre sí para proporcionar una configuración en hendidura en el sitio activo con forma de “V”. La hélice central es la característica más notable del dominio izquierdo, mientras que en el domino derecho generalmente dominan motivos de barril b. El sitio activo se encuentra en la interfaz entre los dos dominios. El pro-péptido contiene un sitio de N-glucosilación conservado que puede dirigir a la proenzima inactiva a los lisosomas mediante la ruta de los receptores de la manosa 6-fosfato. El pro-péptido de 99 aa se escinde entre Arg114 y Ala115 en una forma madura de 215 aminoácidos [1]. Las cisteína catepsinas no son estrictamente lisosomales, las proteasas se transportan entre fagosomas, endosomas y lisosomas y, en circunstancias fisiológicas específicas, enzimas individuales pueden acumularse en determinados orgánulos. Las cisteína catepsinas también se liberan en el citoplasma después de filtración lisosomal producida por oxidantes exógenos (especies reactivas de oxigeno).

La catepsina K es una proteasa que se define por su alta especificidad por las quininas y está implicada en la reabsorción ósea. La capacidad de la enzima para catabolizar la elastina, el colágeno y la gelatina la permite degradar hueso y cartílago. Esta actividad catabólica también es, en parte, responsable de la pérdida de elasticidad pulmonar y del retroceso en enfisema. Los inhibidores de la catepsina K, tales como odanacatib, muestran un gran potencial en el tratamiento de la osteoporosis. La catepsina K también se expresa en una fracción significativa de cánceres de mama humanos, donde podría contribuir a invasión tumoral. Las mutaciones producidas en este gen son la causa de picnodisostosis, una enfermedad autosómica recesiva caracterizada por osteosclerosis y baja estatura. La expresión de la catepsina K se estimula por citocinas inflamatorias que se liberan tras producirse una lesión tisular.

Polimorfismos de la CTSK humana

El papel vital de la catepsina K en la función osteoclástica se sugirió por primera vez investigando qué mutaciones en este gen podrían ser las causantes de la picnodisostosis. El trastorno humano denominado picnodisostosis, es un trastorno esquelético raro, autosómico, recesivo, producido por mutaciones en la catepsina K. Hasta ahora, se han identificado seis mutaciones diferentes en seres humanos: (1) un transición A-G en la posición 1095 del ADNc (2) una transición G-C en el nucleótido 541 (3) una transición C-T en el nucleótido (4) una transición C-T en el nucleótido 935 (5) una transición G-A en el nucleótido 236 (6) una transición T-C en el nucleótido 926. La mutación en estos genes afecta al metabolismo del sistema esquelético, produciendo defectos en la reabsorción y remodelación ósea. En estudios clínicos, la picnodisostosis se caracteriza por una baja estatura, osteosclerosis, acroosteolisis, espondilólisis, suturas craneales separadas con fontanelas abiertas, fragilidad ósea y pérdida de ángulo mandibular. La mutación de la catepsina K produce trastornos de picnodisostosis únicos en lugar de osteopetrosis simple, como se observa en otras enfermedades asociadas con genes osteoclásticos, tales como c-src o Atp6i. Esta característica de la mutación de la catepsina K junto con la detección de ARNm de catepsina K en diversos tejidos, incluyendo hueso, ovario, corazón, placenta, pulmón, músculo esquelético, colon e intestino delgado, sugiere que la catepsina K puede constituir otras funciones aparte de solo la degradación de proteínas de la matriz que puede dar como resultado los fenotipos de picnodisostosis exclusivos [1].

Distribución tisular y celular

Las cisteína catepsinas no son estrictamente lisosomales, las proteasas se transportan entre fagosomas, endosomas y lisosomas y, en circunstancias fisiológicas específicas, enzimas individuales pueden acumularse en determinados orgánulos. Las cisteína catepsinas también se liberan en el citoplasma después de filtración lisosomal producida por oxidantes exógenos (especies reactivas de oxigeno). La acidificación del espacio pericelular de macrófagos derivados de monocitos, macrófagos pulmonares y osteoclastos potencia la liberación de la catepsina K para promover la proteólisis extracelular. Una bomba de HÞ-ATPasa puede estar implicada en la producción de un espacio subcelular ácido transfiriendo protones desde el espacio citoplasmático al extracelular. Estudios de inmunolocalización, hibridación *in situ* y microscopía con fluorescencia han demostrado que la catepsina K es mucho más abundante en osteoclastos a lo largo de las lagunas de reabsorción ósea de lo que lo son las catepsinas B, L y S. El ARNm de la catepsina K se ha detectado en diversos tejidos incluyendo hueso, ovario, corazón, placenta, pulmón, músculo esquelético, colon e intestino delgado. Se han encontrado altas concentraciones de catepsina K en osteoclastos, células similares a osteoclastos (células gigantes multinucleadas) y también en fibroblastos sinoviales y en articulaciones artríticas reumatoides, que están implicadas en la erosión patológica de cartílago articular, y en las células epitelioides de sistemas orgánicos como el pulmón y la glándula tiroidea. La catepsina K también se encuentra en células de la musculatura lisa aórtica, macrófagos, en fluidos bronco alveolares y se segrega por macrófagos, lo cual pueden ser de importancia considerable para la remodelación de la matriz extracelular [2].

Inhibidores de CTSK

Los inhibidores de la catepsina K están ampliamente descritos en la bibliografía, pero sin limitación, para el tratamiento de enfermedades óseas.

El documento WO 2004/007477 describe derivados de acil hidrazino tiofeno como inhibidores de enzimas metabólicas (entre otras, la Catepsina K) para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. El documento WO 2004/007477 desvela de forma muy genérica inhibidores de quinasas o proteasas, y no desvela ninguna prueba experimental de que un compuesto proporcionado sea incluso un inhibidor parcial de la Catepsina K.

Veillard y col. (Int J Biochem Cell Biol. 2008;40(6-7):1079-94) sugieren una posible combinación de los inhibidores de la ECA con inhibidores de la cininasa, para el tratamiento de insuficiencia cardíaca o hipertensión pulmonar. Veillard y col. no sugieren el uso de un inhibidor selectivo de Catepsina K.

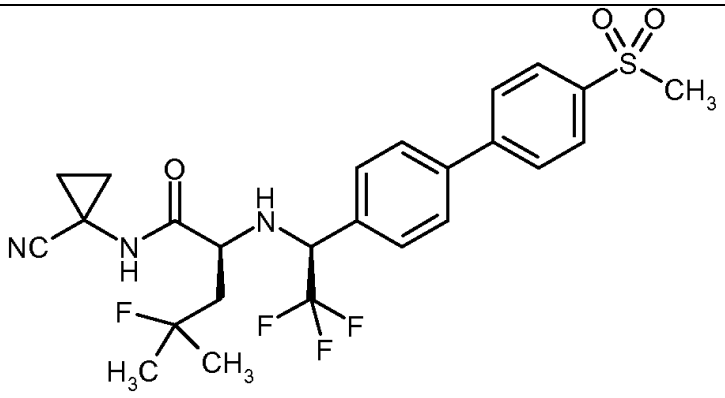
El documento WO 2006/076796 menciona inhibidores de la catepsina K que pueden ser útiles para el tratamiento de la obesidad y trastornos relacionados.

El odanacatib, un inhibidor selectivo de la catepsina K, y su uso para el tratamiento de la osteoporosis se describe en Bone y col. (J. Bone Miner. Res. 25 (5) 937-947 (2010)).

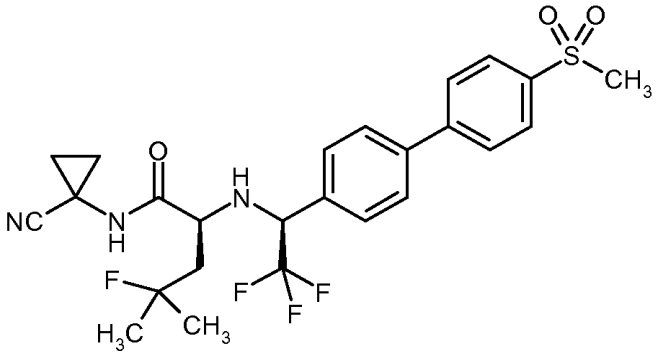
El documento WO 2006/076796 y Bone y col. (J. Bone Miner. Res. 25 (5) 937-947) pueden servir como la técnica anterior más próxima a la presente invención, dado que estos desvelan usos farmacológicos de Odanacatib. A base de esta técnica anterior, un objeto de la invención es la provisión de Odanacatib para su uso en un tratamiento alternativo adicional.

La presente invención se refiere a inhibidores selectivos de la Catepsina K para su uso en el tratamiento y/o la profilaxis de hipertensión pulmonar e insuficiencia cardíaca, y para su uso en el tratamiento y/o la profilaxis de hipertensión pulmonar y/o insuficiencia cardíaca aguda y/o crónica.

Más específicamente la presente invención se refiere al compuesto de fórmula (I).

Compuesto	Nombre de la estructura	Descripción
(I)	 Odanacatib	Compuesto de acuerdo con la fórmula (I), su producción y uso como agente farmacéutico se describe en: J.Y.Gauthier y col., Bioorg. Med. Chem. Lett. 18 (2008) 923-928; P. O'Shea y col., J. Org. Chem. (2009), 74(4), 1605-10; M. D. Truppo in: H.-U. Blaser, H.-J. Federsel (Eds.) "Asymmetric Catalysis on Industrial Scale" (2ª edición) (2010), 397-414.

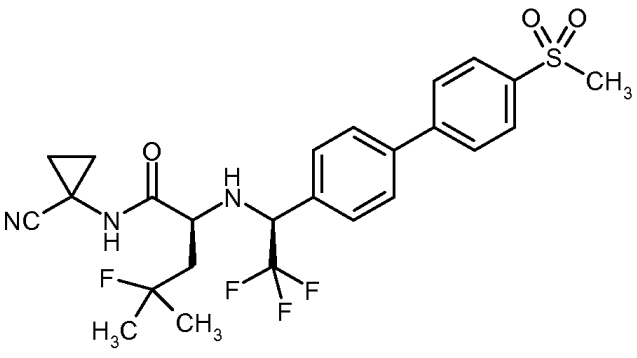
La presente invención se refiere al compuesto de fórmula (I)



Odanacatib (I)

para su uso en un procedimiento para el tratamiento y/o la profilaxis de hipertensión pulmonar y/o insuficiencia cardíaca aguda o crónica.

En una realización más preferida, la presente invención se refiere al compuesto de fórmula (I)



Odanacatib (I)

para su uso en un procedimiento para el tratamiento y/o la profilaxis de hipertensión pulmonar.

Dependiendo del modelo de sustitución, los compuestos de la fórmula (I) pueden existir en formas estereoisoméricas, que se comportan como imagen e imagen especular (enantiómeros) o que no se comportan como imagen e imagen especular (diastereómeros). La invención se refiere al uso de ambos, enantiómeros y diastereómeros, y a sus mezclas respectivas. Al igual que los diastereómeros, las formas racémicas pueden separarse en los constituyentes estereoisoméricamente uniformes de una manera conocida. Del mismo modo, la presente invención también se refiere al uso de los otros tautómeros de los compuestos de la fórmula (I) y sus sales.

Las sales de los compuestos de la fórmula (I) pueden ser sales fisiológicamente aceptables de las sustancias de acuerdo con la invención con ácidos minerales, ácidos carboxílicos o ácidos sulfónicos. Son sales particularmente preferidas, por ejemplo, aquellas con ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido trifluoroacético, ácido acético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico o ácido benzoico.

Los compuestos de la presente invención aparecen preferentemente como clorhidratos y trifluoroacetatos.

Las sales que pueden mencionarse son también sales con bases habituales, tales como, por ejemplo, sales metálicas alcalinas (por ejemplo, sales de sodio o de potasio), sales metálicas alcalinotérreas (por ejemplo, sales de calcio o de magnesio) o sales de amonio, derivadas de amoniaco o aminas orgánicas tales como, por ejemplo, dietilamina, trietilamina, etildiisopropilamina, procaína, dibencilamina, *N*-metilmorfolina, dihidroabietilamina, 1-efenamina o metilpiperidina.

Los hidratos o solvatos están diseñados de acuerdo con la invención como aquellas formas de los compuestos de la fórmula (I) que en estado sólido o líquido forman un compuesto molecular o un complejo por hidratación con agua o coordinación con moléculas disolventes. Son ejemplos de hidratos los sesquihidratos, monohidratos, dihidratos o trihidratos. Igualmente, también son adecuados los hidratos o solvatos de sales de los compuestos de acuerdo con la invención.

Modelos animales

Hipertensión pulmonar inducida por hipoxia en cobayas

La hipoxia crónica es un modelo animal, aceptado y descrito en la bibliografía, de hipertensión pulmonar y se describe para diferentes especies (Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 297: L1013-L1032, 2009; J Pharmacol Sci 107, 8 - 14 (2008); Pharmacology & Therapeutics 92 (2001) 1 - 20). La hipoxia aguda aumenta la presión arterial pulmonar a través de constricción arterial pulmonar. La hipoxia crónica produce hipertensión pulmonar más grave a través de cambios arquitectónicos vasculares y un aumento del hematocrito (Hct) en la sangre. Los cambios arquitectónicos incluyen engrosamiento medial en arterias pulmonares musculares y la aparición de nuevo músculo liso medial en arterias pequeñas que previamente estaban, o no, parcialmente muscularizadas. Este último fenómeno se denomina extensión muscular. Estos cambios se deben a hipertrofia, hiperplasia y migración distal de células de la musculatura lisa vascular o células precursoras de la musculatura lisa, tales como pericitos. Thompson y col. muestran estos efectos (incluyendo el aumento de peso ventricular derecho) en un modelo en cobayas (J. Appl. Physiol. 74(2): 916-921, 1993).

Insuficiencia cardíaca en perros inducida por electroestimulación

La insuficiencia cardíaca experimental inducida por electroestimulación ventricular rápida en perros da como resultado un estado cardiomiopático de bajo rendimiento. La remodelación miocárdica y la dilatación de cámaras se produce para contrarrestar el estrés de pared aumentado. Junto con estos cambios hay contractilidad ventricular deprimida. Estas alteraciones son similares a las observadas en la cardiomiopatía dilatada (CMD) de origen natural tanto canina como humana. Las cardiomiopatías están asociadas con una pérdida progresiva de miocitos a lo largo de la pared ventricular y músculos papilares. (Cardiovascular Research 49 (2001) 127-134).

Inhibidor de CTSK (Odanacatib) en un modelo de hipertensión pulmonar en cobayas

El Inhibidor de CTSK, Odanacatib, se ensayó en un modelo de hipertensión pulmonar en cobayas, como se describe en la sección de ejemplos. Cobayas macho Dunkin Hartley, con un peso aproximado de 250 g, se distribuyeron aleatoriamente en tres grupos de tratamiento diferentes (n=7-8 animales/grupo; control + placebo, hipoxia + placebo, hipoxia + Odanacatib). Para la exposición a hipoxia crónica, las cobayas se mantuvieron en hipoxia normobárica (a 10 % de O2) en cámaras aireadas durante 28 días. Los animales de control se mantuvieron en aire ambiente. La comida y el agua se proporcionaron a discreción. Las cobayas recibieron Odanacatib o placebo mediante infusión continua por implante de una minibomba osmótica desde el día 0 hasta el día 28. El día 28 se extrajo la sangre de los animales y el corazón. El corazón se diseccionó, y la relación de peso del ventrículo derecho con respecto al ventrículo izquierdo más el septo (VD/VI + S) se calculó como un índice de hipertrofia ventricular derecha. El ventrículo derecho se congeló instantáneamente sobre hielo seco para realizar la extracción de ARN y la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real cuantitativa. Después de 4 semanas de hipoxia, la relación VD/VI+S

aumentó de 0,28 ± 0,01 (media ± ETM, grupo control normóxico) a 0,37 ±0,01 (media ± ETM, grupo placebo hipóxico). El tratamiento con Odanacatib disminuyó notable y sorprendentemente la relación VD/VI+S a 0,30 ± 0,01 (media ± ETM). Los resultados se muestran en la figura 24. Control: relación de peso del ventrículo derecho frente al peso del ventrículo izquierdo del corazón, incluyendo el septo, con normoxia; placebo: relación de peso del ventrículo derecho frente al peso del ventrículo izquierdo del corazón, incluyendo el septo, con hipoxia; Odanacatib: relación de peso del ventrículo derecho frente al peso del ventrículo izquierdo del corazón, incluyendo el septo, con hipoxia y tratamiento con Odanacatib. Los cambios significativos se indican con un asterisco.

Para analizar la patología de los animales y determinar la eficacia del tratamiento con Odanacatib, se realizó la expresión de genes marcadores. La expresión del PNA aumentó en los corazones de los animales mantenidos con hipoxia, mientras que el tratamiento con Odanacatib condujo a una expresión notablemente disminuida con hipoxia (en comparación con el grupo tratado con placebo). Los resultados se muestran en la figura 25. La expresión de LTBP2 aumentó en los corazones de los animales mantenidos con hipoxia, mientras que el tratamiento con Odanacatib condujo a una expresión notablemente disminuida con hipoxia (en comparación con el grupo tratado con placebo). Los resultados se muestran en la figura 26. La expresión de CTSK aumentó en los corazones de los animales mantenidos con hipoxia, mientras que el tratamiento con Odanacatib condujo a una expresión notablemente disminuida con hipoxia (en comparación con el grupo tratado con placebo). Los resultados se muestran en la figura 27. Debido a la correlación conocida de los niveles de PNA aumentados y a la fase de enfermedad en pacientes y modelos animales con insuficiencia cardíaca, la expresión aumentada de CTSK parece estar correlacionada con hipertensión pulmonar. El tratamiento con Odanacatib de los animales con hipertensión pulmonar inducida por hipoxia conduce a una reducción de peso del ventrículo derecho en comparación con los animales tratados con placebo. En este caso se muestra que el Odanacatib y otros inhibidores de CTSK presentados en la invención son útiles para tratar la hipertensión pulmonar.

Expresión de CTSK en perros con insuficiencia cardíaca inducida por electroestimulación

La expresión de CTSK en muestras de corazón de perros con insuficiencia cardíaca inducida por electroestimulación se realizó para analizar la importancia de CTSK en la insuficiencia cardíaca. El experimento se realizó como se describe en la sección de ejemplos (modelos animales de ejemplo A-4).

El análisis de expresión de PNA y CTSK se realizó como se describe en la sección de ejemplos para la aurícula izquierda, aurícula derecha, ventrículo izquierdo y ventrículo derecho. En la figura 28 se muestran los resultados de la expresión de CTSK y en la figura 29 los del PNA. La expresión de CTSK está aumentada en la aurícula izquierda, aurícula derecha, ventrículo izquierdo y ventrículo derecho de perros electroestimulados en comparación con tejidos de perros no electroestimulados. La expresión del PNA está aumentada en la aurícula derecha e izquierda de perros electroestimulados en comparación con tejidos de perros no electroestimulados. Debido a la correlación conocida de los niveles de PNA aumentados y a la fase de enfermedad en pacientes y modelos animales con insuficiencia cardíaca, la expresión aumentada de CTSK parece estar correlacionada con insuficiencia cardíaca. En este caso se muestra que, en la insuficiencia cardíaca, la expresión de CTSK está regulada positivamente y que la inhibición de CTSK por inhibidores (presentados en la invención) como Odanacatib, pero sin limitarse al mismo, es útil para el tratamiento de insuficiencia cardíaca.

Indicaciones

La hipoxia aguda provoca vasoconstricción arterial pulmonar fuerte y aumenta la presión arterial pulmonar [5]. Este mecanismo denominado de Euler-Liljestrand describe la conexión entre ventilación y circulación sanguínea (perfusión) del pulmón y también se conoce como vasoconstricción pulmonar hipóxica [6]. La hipoxia crónica produce remodelación vascular extensiva, hipertensión pulmonar y cor pulmonale [7]. El proceso de remodelación vascular afecta principalmente a las ramificaciones distales de las arterias pulmonares: tanto a células de la musculatura lisa vascular (CMLV) como a fibroblastos adventiciales que proliferan en estas condiciones [8].

La hipertensión pulmonar (Clasificación Clínica de Hipertensión Pulmonar, Dana Point 2008) es un trastorno pulmonar progresivo que puede tener diversas causas y, si no se trata, produce la muerte. Está asociada con una sobrecarga en el lado derecho del corazón con insuficiencia cardíaca en el lado derecho que avanza a insuficiencia de bombeo, lo que puede producir la muerte. Por definición, en hipertensión pulmonar crónica, la presión arterial pulmonar media (PAPm) es >25 mmHg en reposo y >30 mmHg durante el ejercicio (valor normal <20 mmHg). Tanto la vasoconstricción arterial pulmonar como la remodelación estructural de los vasos pulmonares son características integrales de los procesos patológicos que contribuyen a una presión pulmonar elevada en esta enfermedad. La remodelación se caracteriza por neomuscularización, hipertrofia medial y engrosamiento adventicial. Este aumento de obliteración de la circulación pulmonar produce un estrés progresivo en el lado derecho del corazón, lo que conduce a un rendimiento reducido del lado derecho del corazón y acabando finalmente en insuficiencia cardíaca derecha.

La denominada hipertensión arterial pulmonar (HAP) idiopática, que se produce sin causa identificable, es un trastorno extremadamente raro con una frecuencia de 1-2 por millón [3]. La edad promedio de los pacientes se ha calculado que es de 36 años, y solo el 10 % de los pacientes son mayores de 60 años. Claramente afecta más a las mujeres que a los hombres. Las formas secundarias de hipertensión pulmonar muestran, en consonancia con la

diversidad de las causas subyacentes, trayectos diferentes, pero en cada caso, es un trastorno grave con una alta mortalidad.

A pesar de todos los avances en la terapia de hipertensión pulmonar, aún no hay perspectivas de curación de este trastorno grave. Sin embargo, terapias específicas, disponibles en el comercio, para la hipertensión pulmonar (por ejemplo, análogos de prostaciclina, antagonistas de receptores de endotelina, inhibidores de fosfodiesterasa) pueden mejorar la calidad de vida, la tolerancia al ejercicio y el pronóstico de los pacientes. Sin embargo, en algunos casos, la utilidad de estos medicamentos está limitada por los casos graves de efectos secundarios y/o formas de administración complicadas. El periodo sobre el cual la situación clínica del paciente puede mejorarse o estabilizarse con una terapia específica es limitado. Eventualmente, la terapia se intensifica y por tanto se aplica una terapia de combinación, en la que, de un modo simultáneo, debe proporcionarse una pluralidad de medicamentos. Las nuevas terapias de combinación son una de las opciones terapéuticas futuras más prometedoras para el tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar [4]. En el desarrollo de nuevas terapias, cada vez es más importante que estas puedan combinarse con las conocidas y que no generen ninguno de los problemas asociados con el metabolismo, por ejemplo, inhibir enzimas P450 CYP solo a un nivel muy pequeño, o a ninguno (comparar interacciones de medicamentos asociadas con terapia de combinación con bosentán y warfarina).

La expresión “hipertensión pulmonar” incluye formas particulares de hipertensión pulmonar, como especifica la Clasificación Clínica de Hipertensión Pulmonar, Dana Point 2008. Son ejemplos que pueden mencionarse la hipertensión arterial pulmonar, la hipertensión pulmonar asociada con trastornos en el lado izquierdo del corazón, la hipertensión pulmonar asociada con enfermedad pulmonar y/o hipoxia, la hipertensión pulmonar debida a tromboembolismo crónico (CTEPH) y/o la hipertensión pulmonar con mecanismos multifactoriales dudosos.

La “hipertensión arterial pulmonar” incluye hipertensión arterial pulmonar idiopática (HAPI, anteriormente denominada también hipertensión pulmonar primaria), hipertensión arterial pulmonar hereditaria, hipertensión arterial pulmonar inducida por fármacos y toxinas e hipertensión arterial pulmonar asociada (HAPA) que está asociada con enfermedades del tejido conectivo, enfermedades cardíacas congénitas, hipertensión portal, infecciones por VIH, esquistosomiasis, anemia hemolítica crónica, con trastornos con implicación venosa/capilar significativa, tales como enfermedad veno-oclusiva pulmonar y hemangiomatosis capilar pulmonar, y/o hipertensión pulmonar persistente en el recién nacido.

La hipertensión pulmonar asociada con trastornos del lado derecho del corazón incluye trastornos con insuficiencia sistólica, insuficiencia diastólica y enfermedades valvulares. La hipertensión pulmonar asociada con enfermedad pulmonar y/o hipoxia incluye trastornos pulmonares obstructivos crónicos, enfermedad pulmonar intersticial, otras enfermedades pulmonares con patrón restrictivo y obstructivo mixto, síndrome de apnea del sueño, hipoventilación alveolar, mal de altura crónico y anomalías constitucionales. La hipertensión pulmonar debida a tromboembolismo crónico (CTEPH) incluye obstrucción tromboembólica de arterias pulmonares proximales, obstrucción tromboembólica de arterias pulmonares distales y/o embolismo pulmonar no trombótico (tumor, parásitos, cuerpos extraños).

La hipertensión pulmonar con mecanismos multifactoriales dudosos incluye trastornos hematológicos (trastornos mieloproliferativos, esplenectomía), trastornos sistémicos (sarcoidosis, histiocitosis pulmonar de células de Langerhans, linfangioleiomiomatosis, neurofibromatosis, vasculitis), trastornos metabólicos (trastornos tiroideos, enfermedades del almacenamiento de glucógeno, enfermedad de Gaucher) y/u otros trastornos como obstrucción tumoral, mediastinitis fibrosante, fallo renal crónico en diálisis.

La expresión “insuficiencia cardíaca” incluye formas particulares de insuficiencia cardíaca. Son ejemplos que pueden mencionarse la insuficiencia cardíaca descompensada aguda, insuficiencia cardíaca derecha, insuficiencia cardíaca izquierda, insuficiencia biventricular, cardiomiopatía isquémica, cardiomiopatía dilatada, cardiomiopatía hipertrófica, cardiomiopatía idiopática, cardiopatías congénitas, insuficiencia cardíaca diastólica, insuficiencia cardíaca sistólica, insuficiencia cardíaca congestiva y/o insuficiencia cardíaca asociada con enfermedades valvulares, estenosis de la válvula mitral, insuficiencia mitral, estenosis de la válvula aórtica, insuficiencia aórtica, estenosis de la válvula tricúspide, insuficiencia tricúspide, estenosis de la válvula pulmonar, insuficiencia pulmonar, enfermedades valvulares combinadas, miocarditis, miocarditis aguda, miocarditis crónica, miocarditis viral, diabetes, abuso de drogas, tales como alcohol y cocaína, fármacos, tales como, agentes quimioterapéuticos, enfermedades del tejido conectivo, VIH y enfermedades de almacenamiento.

Terapias de combinación

La presente divulgación se refiere adicionalmente a medicamentos que comprenden Odanacatib y uno o más principios activos adicionales, especialmente para el tratamiento y/o la profilaxis de los trastornos mencionados anteriormente. Son ejemplos de principios de combinación activos adecuados que pueden mencionarse preferentemente:

- agentes hipolipemiantes, especialmente inhibidores de HMG-CoA (3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A) reductasa;

- agentes terapéuticos coronarios/vasodilatadores, especialmente inhibidores de ACE (enzima convertidora de angiotensina), antagonistas de receptores de AII (angiotensina II); antagonistas de □-adrenoreceptores; antagonistas de alfa-1 adrenoreceptores; diuréticos; bloqueadores de canales de calcio; antagonistas de receptores de endotelina, antagonistas de receptores de mineralocorticoides, inhibidores de renina, inhibidores de rho-quinasa y sustancias que producen un aumento del guanosín monofosfato cíclico (GMPc), tales como, por ejemplo, estimuladores o activadores de guanilato ciclasa soluble;
- activadores de plasminógeno (trombolíticos/fibrinolíticos) y compuestos que aumentan la trombolisis/fibrinolisis, tales como inhibidores del inhibidor del activador de plasminógeno (inhibidores de IAP), inhibidores del inhibidor de fibrinólisis activada por trombina (inhibidores de TAFI) e inhibidores del factor Xa;
- sustancias que tienen actividad anticoagulante (anticoagulantes);
- sustancias que inhiben la agregación plaquetaria (inhibidores de agregación plaquetaria);
- antagonistas de receptores de fibrinógeno (antagonistas de glucoproteína IIb/IIIa);
- antiarrítmicos;
- inhibidores de quinasa;
- estimuladores y activadores de guanilato ciclasa soluble;
- análogos de prostaciclina;
- antagonistas de receptores de endotelina;
- inhibidores de elastasa
- e inhibidores de fosfodiesterasa
- inhibidores de metaloproteinasa de la matriz
- antagonistas de receptores de serotonina
- diuréticos
- nitratos orgánicos y donantes de NO
- agentes inotrópicos positivos, por ejemplo, glucósidos digitales (digoxina), dopamina, dobutamina y agonistas dopaminérgicos, agonistas beta adrenérgicos, adrenalina, noradrenalina
- péptidos natriuréticos
- sensibilizador de calcio, por ejemplo levosimendan
- inhibidores de CTSS
- broncodilatadores, por ejemplo albuterol, metaproterenol, terbutalina, salmeterol, formoterol y bambuterol
- fármacos antiinflamatorios, por ejemplo, glucocorticoides.

Adicionalmente, la presente invención se refiere a un inhibidor selectivo de catepsina K de fórmula (I) para su uso en un procedimiento para el tratamiento y/o la profilaxis de hipertensión pulmonar en seres humanos y en animales administrando una cantidad eficaz de al menos un inhibidor selectivo de catepsina K de fórmula (I) en combinación con un excipiente inerte, no tóxico, farmacéuticamente adecuado.

La presente invención también se refiere a un inhibidor selectivo de catepsina K de fórmula (I) para su uso en un procedimiento para el tratamiento y/o la profilaxis de hipertensión pulmonar en seres humanos y en animales administrando una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) o de un medicamento que comprenda al menos un compuesto de la invención, en combinación con un excipiente inerte, no tóxico, farmacéuticamente adecuado.

Los medicamentos a preparar de acuerdo con su uso de acuerdo con la invención o a usar de acuerdo con la invención comprenden al menos un compuesto de la invención, normalmente junto con uno o más excipientes no tóxicos, inertes, farmacéuticamente adecuados.

Los compuestos de acuerdo con la invención pueden actuar de modo sistémico y/o local. Para esta finalidad, pueden administrarse de una manera adecuada tal como, por ejemplo, por vía oral, parenteral, pulmonar, nasal, sublingual, lingual, bucal, rectal, dérmica, transdérmica, conjuntival u ótica o como un implante o una endoprótesis

vascular.

Los compuestos de acuerdo con la invención pueden administrarse en formas de administración adecuadas para estas vías de administración.

Son formas de administración adecuadas para administración oral las que actúan de acuerdo con la técnica anterior y administran los compuestos de acuerdo con la invención rápidamente y/o de una manera modificada y que contienen los compuestos de acuerdo con la invención en forma cristalina y/o amorfa y/o disuelta, tal como, por ejemplo, comprimidos (comprimidos revestidos o no, que tienen, por ejemplo, revestimientos entéricos o revestimientos que son insolubles o que se disuelven con un retardo y controlan la liberación del compuesto de acuerdo con la invención), comprimidos que se disgregan rápidamente en la boca, o películas/obleas, películas/liofilizados, cápsulas (por ejemplo cápsulas de gelatina blanda o dura), comprimidos revestidos con azúcar, gránulos, bolitas, polvos, emulsiones, suspensiones, aerosoles o soluciones.

La administración parenteral puede realizarse anulando una etapa de absorción (por ejemplo intravenosa, intraarterial, intracardíaca, intraespinal o intralumbar) o incluyendo una etapa de absorción (por ejemplo intramuscular, subcutánea, intercutánea, percutánea o intraperitoneal). Las formas de administración adecuadas para administración parenteral son, entre otras, preparaciones para inyección e infusión y en forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, liofilizados o polvos estériles.

Son adecuadas para el resto de vías de administración, por ejemplo, las formas farmacéuticas para inhalación (entre otros, inhaladores en polvo, nebulizadores), gotas nasales, soluciones o pulverizaciones, comprimidos, películas/obleas o cápsulas a administrar por vía lingual, sublingual o bucal, supositorios, preparaciones oculares u óticas, cápsulas vaginales, suspensiones acuosas (lociones, mezclas de agitación), suspensiones lipófilas, pomadas, cremas, sistemas terapéuticos transdérmicos (por ejemplo parches), leche, pastas, espumas, polvos para uso externo, implantes o endoprótesis vasculares.

En una realización más preferida, la presente divulgación se refiere al compuesto mencionado anteriormente o a composiciones farmacéuticas/medicamentos para su uso en un procedimiento para el tratamiento y/o la profilaxis de una enfermedad comprendida en un grupo de enfermedades que consiste en hipertensión arterial pulmonar, hipertensión pulmonar asociada con trastornos del lado derecho del corazón, hipertensión pulmonar asociada con enfermedad pulmonar y/o hipoxia, hipertensión pulmonar debido a tromboembolismo crónico (CTEPH). Una realización incluso más preferida es el uso en un procedimiento para el tratamiento y/o la profilaxis de hipertensión arterial pulmonar.

En una realización más preferida la presente invención se refiere al compuesto o a las composiciones farmacéuticas/medicamentos mencionados anteriormente para su uso en un procedimiento para el tratamiento y/o la profilaxis de insuficiencia cardíaca crónica.

En una realización más preferida la presente divulgación se refiere al compuesto o a las composiciones farmacéuticas/medicamentos mencionados anteriormente para su uso en un procedimiento para el tratamiento y/o la profilaxis de cardiomiopatía dilatada.

A: Procedimientos experimentales

A-1. Ejemplo 1

Análisis de expresión

Moliendo con nitrógeno líquido se pulverizaron tejidos de cobaya o de perro. El ARN total se extrajo, se realizó digestión con DNasa I para eliminar el ADN genómico residual y se realizó la transcripción inversa del ARN usando cebadores hexaméricos aleatorios. Se realizó análisis por RT-PCR cuantitativa de TaqMan usando el sistema de detección de secuencias PRISM 7900 de Applied Biosystems. El protocolo térmico se estableció a 2 min a 50 ºC, seguido por 10 min a 95 ºC y por 40 ciclos de 15 s a 95 ºC y 1 min a 60 ºC. Los resultados se normalizaron a de controles L32 (perro) o b-actina (cobaya), y la expresión relativa se calculó de acuerdo con la siguiente fórmula: expresión relativa = 2(20-(CT(sonda)-CT(L32/b-actina))). El parámetro CT se define como el número de ciclos en el que el gráfico de amplificación pasa un umbral fijo por encima de la línea basal.

A-2. Ejemplo 2

Uso de LTBP2 como biomarcador, diana terapéutica y de diagnóstico en enfermedad cardiovascular (hipertensión pulmonar inducida por hipoxia)

El modelo de hipertensión pulmonar inducida por hipoxia se define en la sección de modelo animal (A-3).

El ARN celular total se aisló con el protocolo del Reactivo Trizol de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Invitrogen; Estados Unidos). El ARN total preparado por el protocolo del Reactivo Trizol se trató con DNAsa I para eliminar la contaminación del ADN genómico.

Para realizar la cuantificación relativa de la distribución de ARNm de la LTBP2, primero se realizó la transcripción inversa de ARN total de cada muestra. Se realizó la transcripción inversa de 1 μg de ARN total usando el Sistema de Transcripción Inversa ImProm-II (Promega, Estados Unidos) de acuerdo con el protocolo de fabricación. El volumen final se ajustó a 200 μl con agua.

Para realizar la cuantificación relativa de la distribución de ARNm de la LTBP2, se usó el Sistema de Detección de Secuencias ABI 7900HT de Applied Bioscience de acuerdo con las instrucciones y los protocolos del fabricante. Las reacciones PCR se establecieron para cuantificar la LTBP2 y el gen constitutivo de la b-actina. Usando el programa informático ABI Primer ExpressTM de Applied Bioscience se diseñaron cebadores, directo e inverso, y sondas para LTBP2 y se sintetizaron en Eurogentec (Bélgica). La secuencia del cebador directo para LTBP2 fue: Cebador1 (SEQ ID NO: 9). La secuencia del cebador inverso para LTBP2 fue Cebador2 (SEQ ID NO: 10). La sonda1 (SEQ ID NO: 11) marcada con FAM (carboxifluoresceína succinidimil éster) como colorante indicador y con TAMRA (carboxitetrametilrodamina) como inactivador, se usó como una sonda para LTBP2. En un total de 20 μl se prepararon los siguientes reactivos: 1x de Mezcla Maestra-qPCR (Eurogentec; Bélgica) y Sonda1 (SEQ ID NO: 11), cebadores directo e inverso para LTBP2 cada uno a 200 nM, sonda marcada con FAM/TAMRA para LTBP2 200 nM y 5 μl de ADNc molde. Los parámetros de ciclado térmico fueron 2 min a 50 ºC, seguido por 10 min a 95 ºC, seguido de 40 ciclos de fusión a 95 ºC durante 15 seg e hibridación/extensión a 60 ºC durante 1 min.

Cálculo de expresión relativa

El valor CT (ciclo umbral) se calculó como se describe en la sección “Determinación cuantitativa de ácidos nucleicos”.

$$\text{deltaCT} = \text{CTLTBP2} - \text{CTb-actina}$$

$$\text{expresión relativa} = 2\text{^}(15\text{-deltaCT})$$

En la Figura 26 se muestran los resultados de la cuantificación de ARNm (perfil de expresión).

Modelos animales

Las propiedades farmacológicas ventajosas de los compuestos que pueden usarse de acuerdo con la invención pueden determinarse mediante los siguientes procedimientos.

A-3. Modelo animal de hipertensión pulmonar inducida por hipoxia en cobayas Tratamiento con inhibidores de CTSK

Cobayas macho Dunkin Hartley con un peso aproximado de 250 g se distribuyeron al azar en tres grupos de tratamiento diferentes (n=7-8 animales/grupo; control + placebo, hipoxia + placebo, hipoxia + Odanacatib). Para la exposición a hipoxia crónica, las cobayas se mantuvieron en hipoxia normobárica (a 10 % de O2) en cámaras aireadas durante 28 días. Los animales de control se mantuvieron en aire ambiente. La comida y el agua se proporcionaron a discreción. Las cobayas recibieron Odanacatib o placebo mediante infusión continua por implante de una minibomba osmótica desde el día 0 hasta el día 28. El día 28 se extrajo la sangre de los animales y el corazón. El corazón se diseccionó, y la relación de peso del ventrículo derecho con respecto al ventrículo izquierdo más el septo (VD/VI + S) se calculó como un índice de hipertrofia ventricular derecha. El ventrículo derecho se congeló instantáneamente sobre hielo seco para realizar la extracción de ARN y la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real cuantitativa. Después de 4 semanas de hipoxia, la relación VD/VI+S aumentó de 0,28 ± 0,01 (media ± ETM, grupo control normóxico) a 0,37 ±0,01 (media ± ETM, grupo placebo hipóxico). El tratamiento con Odanacatib disminuyó notablemente la relación VD/VI+S a 0,30 ± 0,01 (media ± ETM). Los resultados se muestran en la figura 24. Control: relación de peso del ventrículo derecho frente al peso del ventrículo izquierdo del corazón, incluyendo el septo, con normoxia; placebo: relación de peso del ventrículo derecho frente al peso del ventrículo izquierdo del corazón, incluyendo el septo, con hipoxia e infusión de placebo; Odanacatib: relación de peso del ventrículo derecho frente al peso del ventrículo izquierdo del corazón, incluyendo el septo, con hipoxia y tratamiento con Odanacatib. Los cambios significativos se indican con un asterisco.

A-4. Perros electroestimulados

La configuración experimental aguda se resume en la figura 30. Para el implante del marcapasos (día 0) y la evaluación hemodinámica (día 21), perros mongrel (Marshall BioResources/USA) con un peso entre 25 y 32 kg se anestesiaron con pentobarbital (de 15 a 30 mg/kg hasta conseguir efecto). El complemento de la anestesia se proporcionó mediante pentobarbital (1-5 mg/kg/h) utilizado, a necesidad, y administrado a través de la vena cefálica izquierda. Para la analgesia, se infundió fentanil (10-40 μg/kg/h) a través de la vena cefálica derecha. Durante todos los procedimientos experimentales los animales se entubaron y se les proporcionó respiración mecánica con aire ambiente usando un respirador de anestesia Sulla 808 (Drager/Alemania).

Implante de marcapasos

Con guía fluoroscópica (OEC FlexiView 8800, GE Healthcare/Estados Unidos) y en condiciones estériles, un cable de marcapasos con elución de esteroides (Setrox S60, Biotronik/Alemania) se insertó a través de una vena auxiliar en el ventrículo derecho y se conectó a un marcapasos (Logos, Biotronik/Alemania). Para confirmar la correcta colocación, se midió el umbral de captura y la señal intracardíaca. Todos los animales recibieron tratamiento con antibiótico parenteral (Enrofloxacina (Baytril®), Bayer/Alemania; 5 mg/kg; s.c.) y analgésico (Metamizol (Metamizol-WDT®) WDT/Alemania; 50 mg/kg; i.m.) durante un periodo de tiempo de 3 días después del implante del marcapasos. Después de la cicatrización de las heridas (día 7) el marcapasos se activó y el corazón se electroestimuló de manera continuada a una velocidad de 220 latidos por minuto (LPM) durante 14 días. Durante este periodo de electroestimulación los perros se mantuvieron sin cambios, con acceso a discreción a alimento y agua, y se dejó a los perros salir a jugar dos veces al día. Los perros se examinaron y evaluaron clínicamente todos los días durante el estudio.

Configuración experimental aguda

Después de 14 días de electroestimulación, los animales se estudiaron con anestesia general para evaluar su respuesta hemodinámica y producción de orina con bolo intravenoso de Conivaptan (0,1 mg/kg i.v.) o Tolvaptan (0,1 mg/kg i.v.), respectivamente. El día del estudio, el marcapasos se desactivó una hora antes de la inducción de la anestesia. En condiciones estériles los animales se conectaron a instrumentación con acceso a la arteria femoral (para medir la presión sanguínea arterial mediante un dilatador vascular percutáneo cargado con NaCl al 0,9 % (Cordis, Waterloo/Bélgica) y el rendimiento del VI (velocidad, contractilidad así como relajación) se evaluó usando un ECG y un catéter con micropunta 5F (Millar Instruments Inc., Houston/Estados Unidos)). A través de una vena auxiliar, se introdujo un catéter Swan Ganz (CCOmbo con supervisión monitorizada, Edwards Lifescience/Estados Unidos) para medir el rendimiento cardíaco, la presión arterial pulmonar, la presión venosa central y la temperatura corporal. Todos los datos se registraron con un Amplificador Gould y con una Unidad de Interfaz de Adquisición ACQ-16 y se analizaron posteriormente con el programa informático Ponemah (todo de DSI/ St. Paul/ Estados Unidos). Se insertó un catéter urinario en la vejiga y se midió la producción de orina cada 20 minutos. Los efectos fisiológicos se describen en Mondritzki y col. (Am J Ther. 29 de diciembre de 2010).

A-5. <u>Biomarcadores</u>

Clases:

Biomarcador de enfermedad: biomarcador relacionado con un resultado clínico o una medida de enfermedad.

Biomarcador de eficacia: biomarcador que refleja el efecto beneficioso de un tratamiento determinado.

Biomarcador de estadificación: biomarcador que distingue entre diferentes fases de un trastorno crónico.

Biomarcador de reemplazo: biomarcador que se considera como un sustituto válido para medir resultados clínicos.

Biomarcador de toxicidad: biomarcador que informa sobre un efecto toxicológico de un fármaco en un sistema *in vitro* o *in vivo*.

Biomarcador de mecanismo: biomarcador que informa sobre un efecto aguas abajo de un fármaco.

Biomarcador de diana: biomarcador que informa sobre la interacción del fármaco con su diana.

PNA

El péptido natriurético auricular (PNA), factor natriurético auricular (FNA), hormona natriurética auricular (HNA), o atriopeptina, es un poderoso vasodilatador, y una hormona de proteína (polipéptido) segregada por las células musculares del corazón [11]. Está involucrado en el control homeostático del agua, sodio, potasio y grasa (tejido adiposo) del organismo. Se libera a través de las células musculares en las cámaras superiores (aurículas) cardíacas (miocitos auriculares), en respuesta al aumento de la presión sanguínea. El PNA reduce la carga de agua, sodio y grasa del sistema circulatorio, reduciendo por tanto la presión sanguínea. El PNA se une a un conjunto específico de receptores - receptores de PNA. La unión agonista- receptor produce una reducción en el volumen de sangre y por lo tanto una reducción en el rendimiento cardíaco y presión sanguínea sistémica. La lipólisis aumenta y la reabsorción de sodio renal disminuye. El efecto global del PNA en el organismo es contrarrestar aumentos de presión y volumen en sangre producidos por el sistema renina-angiotensina.

El PNA es un biomarcador de enfermedad, de estadificación, de reemplazo y de eficacia de hipertensión pulmonar (Pflugers Arch. mayo 1997;434(1): 63-9.; Clin Chim Acta. noviembre 2000;301(1-2): 19-30.; Chest. octubre 2004; 126(4): 1330-6.) e insuficiencia cardíaca (Clin. Cardiol. 33, 11, 700-707 (2010)) muy conocido.

Renal:

La arteriola glomerular aferente se dilata, la arteriola glomerular eferente se contrae y las células mesangiales se relajan. Esto aumenta la presión en los capilares glomerulares, aumentando por tanto la tasa de filtración glomerular (TFG), dando como resultado una mayor excreción de sodio y agua. El aumento del flujo sanguíneo, a través de los vasos rectos, eliminará los solutos (NaCl y urea) fuera del intersticio medular [6]. La menor osmolaridad del intersticio medular conduce a una menor reabsorción del fluido tubular y a una mayor excreción. La reabsorción de sodio disminuye en el túbulo proximal convolucionado y en el conducto de recogida cortical de la nefrona mediante fosforilación de ENaC de dependiente del guanosín monofosfato 3',5' cíclico (GMPc). La secreción de renina se inhibe, inhibiendo por lo tanto el sistema renina-angiotensina. La corteza adrenal reduce la secreción de aldosterona.

Vascular:

La musculatura lisa vascular se relaja en arteriolas y en vénulas por: elevación del GMPc de la musculatura lisa vascular mediada por receptores de membrana Inhibición de los efectos de catecolaminas.

Cardíaco:

Se inhibe la hipertrofia cardíaca inadaptada. Ratones que carecen de NPRA desarrollan masa cardíaca aumentada y fibrosis grave y mueren repentinamente. La re-expresión de NPRA rescata el fenotipo. Puede asociarse con amiloidosis auricular aislada.

LTBP2

Puede accederse a la secuencia de nucleótidos de la LTBP2 en las bases de datos con el número de referencia Z37976 (ser humano). Las secuencias de cebadores se proporcionan en las SEQ ID NO: 9-11 (cobaya).

El factor de crecimiento transformante beta (TGFβ) es una familia multifuncional de citocinas que ejerce una amplia diversidad de efectos sobre células de mamífero tanto normales como transformadas. La secreción y activación del TGFβ está regulada por su asociación con proteínas asociadas a latencia y proteínas de unión al TGFβ latente (LTBP). En mamíferos, el factor de crecimiento transformante β (TGFβ) existe en tres isoformas (TGFβ1, TGFβ2 y TGFβ3). Cada una de estas normalmente se segrega en complejos latentes grandes (CLG) que no tienen actividad biológica y que comprenden tres componentes: un homodímero de TGFβ maduro, unido por enlaces disulfuro, asociado de manera no covalente, con proteínas asociadas a latencia (PAL; homodímeros del fragmento N-terminal del TGFβ precursor) y una molécula de proteína de unión a TGFβ latente (LTBP) unida de manera covalente. Se han identificado cuatro genes LTBP: LTBP1 a LTBP4. Las PAL son suficientes para inactivar el homodímero maduro, y la eliminación de las PAL y LTBP o la modulación de su interacción es esencial para que funcionen cualquiera de las isoformas de TGFβ. Las citocinas del TGFβ modulan el crecimiento y las funciones de una amplia diversidad de tipos de células de mamífero. En los últimos años se ha puesto de manifiesto que las LTBP pueden estar implicadas en el ensamblaje, secreción y direccionamiento del TGFβ a sitios en los que este se almacena y/o activa. Por tanto, estas proteínas pueden desempeñar funciones críticas en el control y direccionamiento de la actividad de los TGFβ. Las LTBP también ejercen efectos, independientemente de los asociados con el TGFβ, por ejemplo, como proteínas de la matriz estructural.

Se sabe relativamente poco sobre el papel funcional de la LTBP2. A diferencia de las otras LTBP, la LTBP2 no puede asociarse con el □□TGFβ pequeño latente. La LTBP2 se expresa principalmente en el pulmón, y a un menor grado, en el hígado, músculo esquelético, placenta y corazón. La proteína de unión a TGFβ □latente, LTBP2, disminuye la adhesión de fibroblastos a fibronectina. La explicación del papel funcional de la LTBP2 está limitada adicionalmente por el hecho de que la deleción de LTBP2 en ratones conduce a letalidad embrionaria.

En lo que respecta al papel funcional de la LTBP2 en el sistema cardiovascular, se ha demostrado que la síntesis de la LTBP2 aumenta en respuesta a lesión arterial en un modelo porcino de angioplasia coronaria [9]. Por tanto, junto con la función bien conocida del TGFβ en el desarrollo de insuficiencia cardíaca [10] nuestro hallazgo de que la LTBP2 en la modificación de la función del TGFβ está regulada sobre el nivel de ARN en corazones DAVI (Dispositivo de Asistencia Ventricular Izquierda), así como en diversos modelos animales de insuficiencia cardíaca, hace que la LTBP2 sea un biomarcador candidato atractivo para la ICC (Insuficiencia cardíaca Congestiva).

La LTBP2 está publicada (pero sin limitación) en las patentes WO 2004/075835 y WO 02/068579.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra la secuencia de nucleótidos de una CTSK de cobaya (SEQ ID NO: 1).

La Figura 2 muestra la secuencia de polipéptidos de una CTSK de cobaya (SEQ ID NO: 2).

La Figura 3 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (CTSK de cobaya) (SEQ ID NO: 3).

La Figura 4 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (CTSK de cobaya) (SEQ ID NO: 4).

La Figura 5 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (CTSK de cobaya) (SEQ ID NO: 5).

La Figura 6 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (PNA de cobaya) (SEQ ID NO: 6).

La Figura 7 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (PNA de cobaya) (SEQ ID NO: 7).

La Figura 8 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (PNA de cobaya) (SEQ ID NO: 8).

La Figura 9 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (LTBP2 de cobaya) (SEQ ID NO: 9).

La Figura 10 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (LTBP2 de cobaya) (SEQ ID NO: 10).

La Figura 11 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (LTBP2 de cobaya) (SEQ ID NO: 11).

La Figura 12 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (b-actina de cobaya) (SEQ ID NO: 12).

La Figura 13 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (b-actina de cobaya) (SEQ ID NO: 13).

La Figura 14 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (b-actina de cobaya) (SEQ ID NO: 14).

La Figura 15 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (L32 de perro) (SEQ ID NO: 15).

La Figura 16 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (L32 de perro) (SEQ ID NO: 16).

La Figura 17 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (L32 de perro) (SEQ ID NO: 17).

La Figura 18 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (CTSK de perro) (SEQ ID NO: 18).

La Figura 19 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (CTSK de perro) (SEQ ID NO: 19).

La Figura 20 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (CTSK de perro) (SEQ ID NO: 20).

La Figura 21 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (PNA de perro) (SEQ ID NO: 21).

La Figura 22 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (PNA de perro) (SEQ ID NO: 22).

La Figura 23 muestra la secuencia de nucleótidos de un cebador útil para la invención (PNA de perro) (SEQ ID NO: 23).

La Figura 24 muestra el peso del corazón de un modelo de hipertensión pulmonar inducido por hipoxia en cobayas.

Control: relación de peso del ventrículo derecho frente al peso del ventrículo izquierdo del corazón, incluyendo el septo, con normoxia; placebo: relación de peso del ventrículo derecho frente al peso del ventrículo izquierdo del corazón, incluyendo el septo, con hipoxia e infusión con placebo; Odanacatib: relación de peso del ventrículo derecho frente al peso del ventrículo izquierdo del corazón, incluyendo el septo, con hipoxia y tratamiento con Odanacatib.

La Figura 25 muestra la expresión relativa del PNA en el ventrículo derecho del corazón del modelo de hipertensión pulmonar inducido por hipoxia en cobayas (eje X: 1= control, 2: placebo, 3: Odanacatib; eje Y: expresión relativa). Control: los animales se mantuvieron en normoxia; placebo: los animales se mantuvieron en hipoxia e infusión con placebo; Odanacatib: los animales se mantuvieron en hipoxia e infusión con Odanacatib.

La Figura 26 muestra la expresión relativa de LTBP2 en el ventrículo derecho del corazón del modelo de hipertensión pulmonar inducido por hipoxia en cobayas (eje X: 1= control, 2: placebo, 3: Odanacatib; eje Y: expresión relativa). Control: los animales se mantuvieron en normoxia; placebo: los animales se mantuvieron en hipoxia e infusión con placebo; Odanacatib: los animales se mantuvieron en hipoxia e infusión con Odanacatib.

La Figura 27 muestra la expresión relativa de CTSK en el ventrículo izquierdo del corazón del modelo de hipertensión pulmonar inducido por hipoxia en cobayas (eje X: 1= control, 2: placebo, 3: Odanacatib; eje Y: expresión relativa). Control: los animales se mantuvieron en normoxia; placebo: los animales se mantuvieron en hipoxia e infusión con placebo; Odanacatib: los animales se mantuvieron en hipoxia e infusión con Odanacatib.

La Figura 28 muestra la expresión relativa de CTSK en muestras de corazón del ventrículo derecho, ventrículo izquierdo, aurícula derecha y aurícula izquierda de un modelo canino de insuficiencia cardíaca. Control: animal sin electroestimulación; electroestimulado: animal con electroestimulación.

La Figura 29 muestra la expresión relativa del PNA en muestras de corazón del ventrículo derecho, ventrículo izquierdo, aurícula derecha y aurícula izquierda de un modelo canino de insuficiencia cardíaca. Control: animal sin electroestimulación; electroestimulado: animal con electroestimulación.

La Figura 30 muestra la configuración experimental aguda para el modelo canino de insuficiencia cardíaca inducido por electroestimulación (según Yatsu y col., Pharmacol Res 2002; 46: 375-381 y Mondritzki y col. Am J Ther. 29 de diciembre de 2010).

Referencias:

1. Zhao Q, Jia Y, Xiao Y., Biochem Biophys Res Commun. 20 de marzo de 2009; 380(4): 721-3

2. Lecaille F, Brömme D, Lalmanach G.; Biochimie. Febrero de 2008;90(2): 208-26. Epub 2 de septiembre de 2007.

3. G.E. D'Alonzo y col., Ann. Intern. Med. 1991, 115, 343-349

4. Ghofrani y col., Herz 2005, 30, 296-302

5. M.E. Campian y col., Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol 2006, 373, 391–400

6. U.S. Euler yG. Liljestrand, Acta Physiol Scand 1946, 12, 301-320

7. N. Weissmann y col., Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2001, 281, L314-L317

8. N.F. Voelkel y R. M. Tuder, J. Clin. Invest. 2000, 106, 733-738

9. Sinha S, Heagerty AM, Shuttleworth CA, Kielty CM., 2002, Cardiovasc Res. Marzo; 53(4): 971-83.

10. Watkins SJ, Jonker L, Arthur HM., 2006, Cardiovasc Res. 1 de febrero; 69(2): 432-9.

11. Potter LR, Yoder AR, Flora DR, Antos LK, Dickey DM (2009). Handb Exp Pharmacol 191 (191): 341–66

12 Veillard F, Lecaille F, Lalmanach G. (2008) Int J Biochem Cell Biol. 40(6-7):1079-94

Documento WO 2004/007477

Documento WO 2006/076796

Documento WO 01/58886

Documento WO 01/070232

Documento WO 00/038687

Documento WO 00/55126

Documento WO 03/075836

Documento WO 2007/003056

Documento WO 99/11640

Documento WO 2004/096785

Documento WO 2004/075835

Documento WO 02/068579

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> Bayer Intellectual Property GmbH

<120> Uso de la inhibición de la catepsina k para el tratamiento y/o la profilaxis de hipertensión pulmonar y/o insuficiencia cardíaca

<130> BHC 11 1 014

<160> 23

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 990
<212> ADN
<213> *Cavia porcellus*

<400> 1

```
atgtgggggc tcaaggttct gctgctgcct gtggtgagct ttgctctgta ccctgaggag       60
atactggaca ctcagtggga gctttggaag aagacctaca ggaagcagta caatggcaag      120
gtggatgaaa tctctcggcg cataatttgg gaaaagaatc tgaaatatat ttccatccat      180
aaccttgagg cctctcttgg tgtccataca tatgaactga gcatgaacca cttgggagac      240
atgaccagtg aagaagtggt tcagaagatg actgggctca aagtacctcc ctctcattct      300
cacagtaatg ataccctgta catcccagac tgggaaggca gggctcctga ttctgttgac      360
taccgaaaga agggctatgt tactcccgtc aaaaaccagg gtcagtgtgg ttcctgttgg      420
gctttcagct ctgtgggtgc cctcgagggc cagctcaaga agaaaacagg caaactctta      480
aatctgagcc cccagaatct ggtggattgt gtatctgaga atgatggctg tggaggtggc      540
tatatgacca acgcctttca gtatgtgcaa gagaaccgtg gcattgactc tgaggacgcc      600
tatccctacg tgggccagga ggaaagctgt atgtacaatc caacaggcaa ggctgctaaa      660
tgccgcgggt atagagagat ccctgtgggc aatgagaagg cgctgaaaag agctgtggcc      720
cgcgtgggac ccgtctctgt ggccattgat gcaagcctga gctccttcca gttctacagc      780
aagggtgtgt attatgatga aagctgcaat ggtgaggatc tgaatcatgc actgctggca      840
gtgggatatg ggatgcagag aggaaataag cactggatac ttaaaaacag ctggggagaa      900
aactggggaa acaaaggcta tgttctcttg gctcgaaata agaacaatgc atgtggcatt      960
gccaacctcg ccagctttcc caagatgtga                                       990
```

<210> 2
<211> 329
<212> PRT
<213> *Cavia porcellus*

<400> 2

```
Met Trp Gly Leu Lys Val Leu Leu Leu Pro Val Val Ser Phe Ala Leu
1               5                  10                  15
```

```
Tyr Pro Glu Glu Ile Leu Asp Thr Gln Trp Glu Leu Trp Lys Lys Thr
            20                  25                  30

Tyr Arg Lys Gln Tyr Asn Gly Lys Val Asp Glu Ile Ser Arg Arg Ile
        35                  40                  45

Ile Trp Glu Lys Asn Leu Lys Tyr Ile Ser Ile His Asn Leu Glu Ala
    50                  55                  60

Ser Leu Gly Val His Thr Tyr Glu Leu Ser Met Asn His Leu Gly Asp
65                  70                  75                  80

Met Thr Ser Glu Glu Val Val Gln Lys Met Thr Gly Leu Lys Val Pro
                85                  90                  95

Pro Ser His Ser His Ser Asn Asp Thr Leu Tyr Ile Pro Asp Trp Glu
            100                 105                 110

Gly Arg Ala Pro Asp Ser Val Asp Tyr Arg Lys Lys Gly Tyr Val Thr
        115                 120                 125

Pro Val Lys Asn Gln Gly Gln Cys Gly Ser Cys Trp Ala Phe Ser Ser
    130                 135                 140

Val Gly Ala Leu Glu Gly Gln Leu Lys Lys Lys Thr Gly Lys Leu Leu
145                 150                 155                 160

Asn Leu Ser Pro Gln Asn Leu Val Asp Cys Val Ser Glu Asn Asp Gly
                165                 170                 175

Cys Gly Gly Gly Tyr Met Thr Asn Ala Phe Gln Tyr Val Gln Glu Asn
            180                 185                 190

Arg Gly Ile Asp Ser Glu Asp Ala Tyr Pro Tyr Val Gly Gln Glu Glu
        195                 200                 205

Ser Cys Met Tyr Asn Pro Thr Gly Lys Ala Ala Lys Cys Arg Gly Tyr
    210                 215                 220

Arg Glu Ile Pro Val Gly Asn Glu Lys Ala Leu Lys Arg Ala Val Ala
225                 230                 235                 240

Arg Val Gly Pro Val Ser Val Ala Ile Asp Ala Ser Leu Ser Ser Phe
                245                 250                 255

Gln Phe Tyr Ser Lys Gly Val Tyr Tyr Asp Glu Ser Cys Asn Gly Glu
```

260 265 270

Asp Leu Asn His Ala Leu Leu Ala Val Gly Tyr Gly Met Gln Arg Gly
275 280 285

Asn Lys His Trp Ile Leu Lys Asn Ser Trp Gly Glu Asn Trp Gly Asn
290 295 300

Lys Gly Tyr Val Leu Leu Ala Arg Asn Lys Asn Asn Ala Cys Gly Ile
305 310 315 320

Ala Asn Leu Ala Ser Phe Pro Lys Met
325

<210> 3
<211> 20
<212> ADN
<213> *Cavia porcellus*

<400> 3
tgagaatgat ggctgtggag 20

<210> 4
<211> 20
<212> ADN
<213> *Cavia porcellus*

<400> 4
gtcaatgcca cggttctctt 20

<210> 5
<211> 25
<212> ADN
<213> *Cavia porcellus*

<400> 5
atgaccaacg cctttcagta tgtgc 25

<210> 6
<211> 18
<212> ADN
<213> *Cavia porcellus*

<400> 6
gagtctgcgc aggtccag 18

<210> 7
<211> 18
<212> ADN
<213> *Cavia porcellus*

<400> 7
ctgctctggg ctccaatc 18

<210> 8
<211> 21
<212> ADN
<213> *Cavia porcellus*

<400> 8

cttcggaggc cggatggaca g 21

<210> 9
<211> 20
<212> ADN
<213> *Cavia porcellus*

<400> 9
gtgagaatgg acgctgtgtg 20

<210> 10
<211> 18
<212> ADN
<213> *Cavia porcellus*

<400> 10
aagccctcga agcagtca 18

<210> 11
<211> 21
<212> ADN
<213> *Cavia porcellus*

<400> 11
cgtgcgggag ggctacacct g 21

<210> 12
<211> 18
<212> ADN
<213> *Cavia porcellus*

<400> 12
tgtcttcccc tccatcgt 18

<210> 13
<211> 20
<212> ADN
<213> *Cavia porcellus*

<400> 13
ttctggccca tgcctaccat 20

<210> 14
<211> 20
<212> ADN
<213> *Cavia porcellus*

<400> 14
aagatctggc ccttgaacct 20

<210> 15
<211> 19
<212> ADN
<213> *Canis familiaris*

<400> 15
ggcaccagtc agaccgata 19

<210> 16
<211> 20
<212> ADN
<213> *Canis familiaris*

<400> 16
cctattgtca atgcctctgg 20

<210> 17
<211> 25
<212> ADN
<213> *Canis familiaris*

<400> 17
caaaattaag cgcaactggc ggaaa 25

<210> 18
<211> 19
<212> ADN
<213> *Canis familiaris*

<400> 18
ggggagaaaa ctggggaaa 19

<210> 19
<211> 19
<212> ADN
<213> *Canis familiaris*

<400> 19
gccgcaagcg ttgttctta 19

<210> 20
<211> 26
<212> ADN
<213> *Canis familiaris*

<400> 20
aaaggctata tcctcatggc tcggaa 26

<210> 21
<211> 20
<212> ADN
<213> *Canis familiaris*

<400> 21
ttggaggaca agatgccttt 20

<210> 22
<211> 20
<212> ADN
<213> *Canis familiaris*

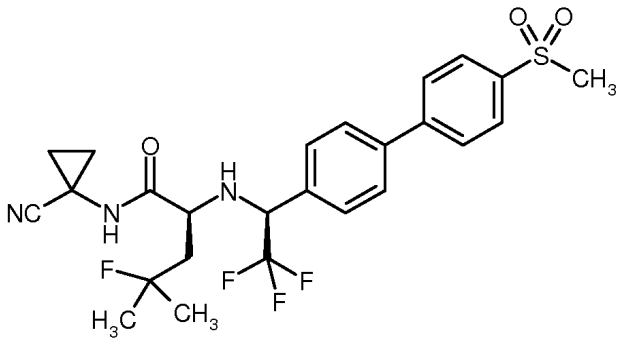
<400> 22
cttccgcatt ctgctcactc 20

<210> 23
<211> 25
<212> ADN
<213> *Canis familiaris*

<400> 23
aagatgaagc cgagtctccc caagc 25

REIVINDICACIONES

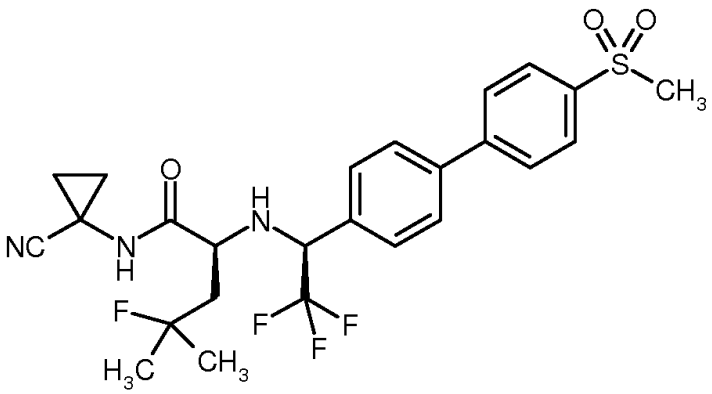
1. Compuesto de fórmula (I)



Odanacatib (I),

para su uso en un procedimiento de tratamiento y/o profilaxis de hipertensión pulmonar y/o insuficiencia cardíaca aguda o crónica y/o sus combinaciones.

2. Compuesto de fórmula (I)



Odanacatib (I),

o sus sales, solvatos y solvatos de las sales,
para su uso en un procedimiento de tratamiento y/o profilaxis de hipertensión pulmonar.

3. Odanacatib o sales, solvatos y solvatos de las sales del mismo, para su uso de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 2, en el que el medicamento es para uso oral.

Figura 1

SEQ ID NO: 1

ATGTGGGGGCTCAAGGTTCTGCTGCTGCCTGTGGTGAGCTTTGCTCTGTACCCTGAG
GAGATACTGGACACTCAGTGGGAGCTTTGGAAGAAGACCTACAGGAAGCAGTACAA
TGGCAAGGTGGATGAAATCTCTCGGCGCATAATTTGGGAAAAGAATCTGAAATATA
TTTCCATCCATAACCTTGAGGCCTCTCTTGGTGTCCATACATATGAACTGAGCATGA
ACCACTTGGGAGACATGACCAGTGAAGAAGTGGTTCAGAAGATGACTGGGCTCAAA
GTACCTCCCTCTCATTCTCACAGTAATGATACCCTGTACATCCCAGACTGGGAAGGC
AGGGCTCCTGATTCTGTTGACTACCGAAAGAAGGGCTATGTTACTCCCGTCAAAAAC
CAGGGTCAGTGTGGTTCCTGTTGGGCTTTCAGCTCTGTGGGTGCCCTCGAGGGCCAG
CTCAAGAAGAAAACAGGCAAACTCTTAAATCTGAGCCCCCAGAATCTGGTGGATTG
TGTATCTGAGAATGATGGCTGTGGAGGTGGCTATATGACCAACGCCTTTCAGTATGT
GCAAGAGAACCGTGGCATTGACTCTGAGGACGCCTATCCCTACGTGGGCCAGGAGG
AAAGCTGTATGTACAATCCAACAGGCAAGGCTGCTAAATGCCGCGGGTATAGAGAG
ATCCCTGTGGGCAATGAGAAGGCGCTGAAAAGAGCTGTGGCCCGCGTGGGACCCGT
CTCTGTGGCCATTGATGCAAGCCTGAGCTCCTTCCAGTTCTACAGCAAGGGTGTGTA
TTATGATGAAAGCTGCAATGGTGAGGATCTGAATCATGCACTGCTGGCAGTGGGAT
ATGGGATGCAGAGAGGAAATAAGCACTGGATACTTAAAAACAGCTGGGGAGAAAA
CTGGGGAAACAAAGGCTATGTTCTCTTGGCTCGAAATAAGAACAATGCATGTGGCA
TTGCCAACCTCGCCAGCTTTCCCAAGATGTGA

Figura 2

SEQ ID NO: 2

MWGLKVLLLPVVSFALYPEEILDTQWELWKKTYRKQYNGKVDEISRRIIWEKNLKYISI
HNLEASLGVHTYELSMNHLGDMTSEEVVQKMTGLKVPPSHSHSNDTLYIPDWEGRAPD
SVDYRKKGYVTPVKNQGQCGSCWAFSSVGALEGQLKKKTGKLLNLSPQNLVDCVSEN
DGCGGGYMTNAFQYVQENRGIDSEDAYPYVGQEESCMYNPTGKAAKCRGYREIPVGN
EKALKRAVARVGPVSVAIDASLSSFQFYSKGVYYDESCNGEDLNHALLAVGYGMQRG
NKHWILKNSWGENWGNKGYVLLARNKNNACGIANLASFPKM

Figura 3

SEQ ID NO: 3

TGAGAATGATGGCTGTGGAG

Figura 4

SEQ ID NO: 4

GTCAATGCCACGGTTCTCTT

Figura 5

SEQ ID NO: 5

ATGACCAACGCCTTTCAGTATGTGC

Figura 6

SEQ ID NO: 6

GAGTCTGCGCAGGTCCAG

Figura 7

SEQ ID NO: 7

CTGCTCTGGGCTCCAATC

Figura 8

SEQ ID NO: 8

CTTCGGAGGCCGGATGGACAG

Figura 9

SEQ ID NO: 9

GTGAGAATGGACGCTGTGTG

Figura 10

SEQ ID NO: 10

AAGCCCTCGAAGCAGTCA

Figura 11

SEQ ID NO: 11

CGTGCGGGAGGGCTACACCTG

Figura 12

SEQ ID NO: 12

TGTCTTCCCCTCCATCGT

Figura 13

SEQ ID NO: 13

TTCTGGCCCATGCCTACCAT

Figura 14

SEQ ID NO: 14

AAGATCTGGCCCTTGAACCT

Figura 15

SEQ ID NO: 15

GGCACCAGTCAGACCGATA

Figura 16

SEQ ID NO: 16

CCTATTGTCAATGCCTCTGG

Figura 17

SEQ ID NO: 17

CAAAATTAAGCGCAACTGGCGGAAA

Figura 18

SEQ ID NO: 18

GGGGAGAAAACTGGGGAAA

Figura 19

SEQ ID NO: 19

GCCGCAAGCGTTGTTCTTA

Figura 20

SEQ ID NO: 20

AAAGGCTATATCCTCATGGCTCGGAA

Figura 21

SEQ ID NO: 21

TTGGAGGACAAGATGCCTTT

Figura 22

SEQ ID NO: 22

CTTCCGCATTCTGCTCACTC

Figura 23

SEQ ID NO: 23

AAGATGAAGCCGAGTCTCCCCAAGC

Figura 24

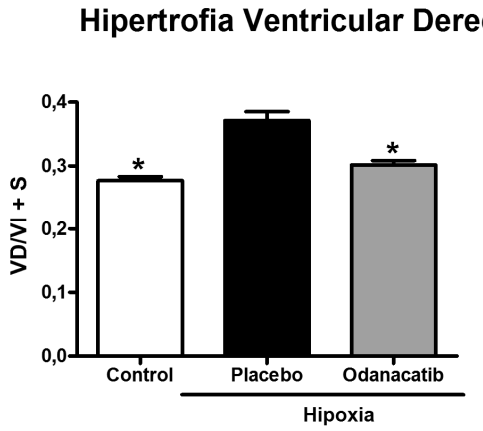


Figura 25

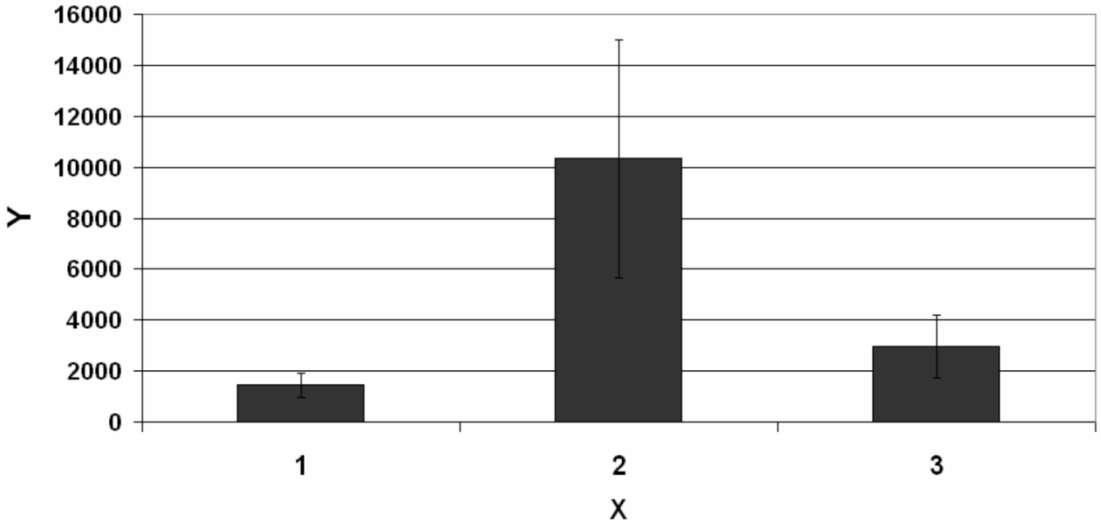


Figura 26

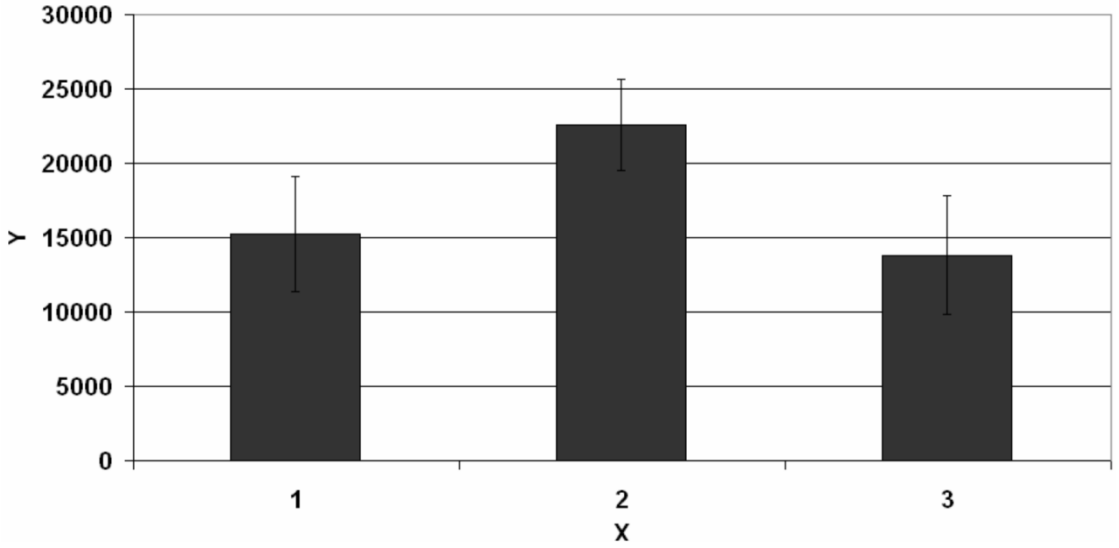


Figura 27

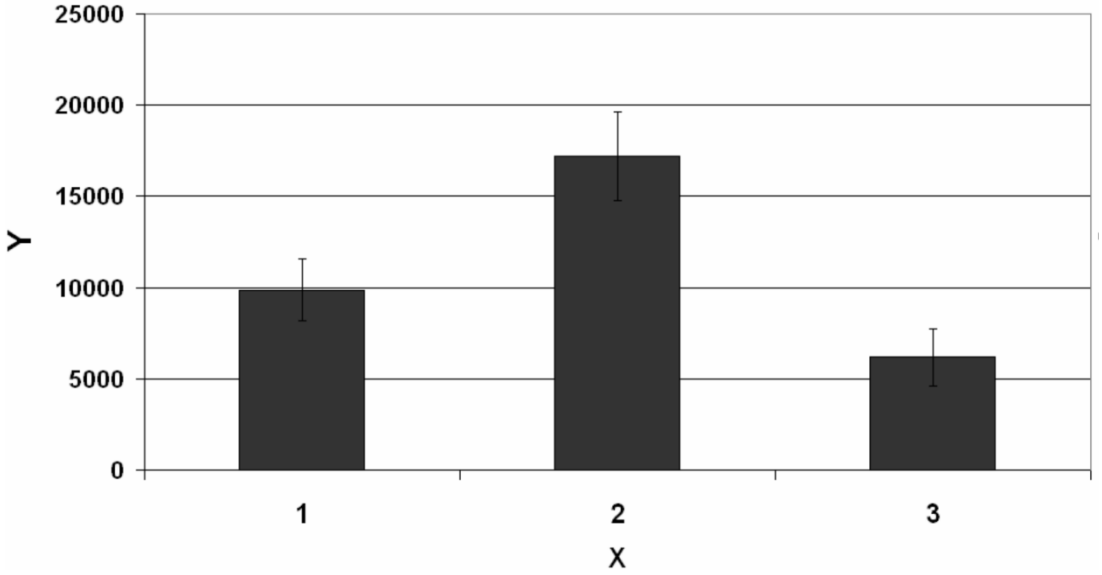


Figura 28

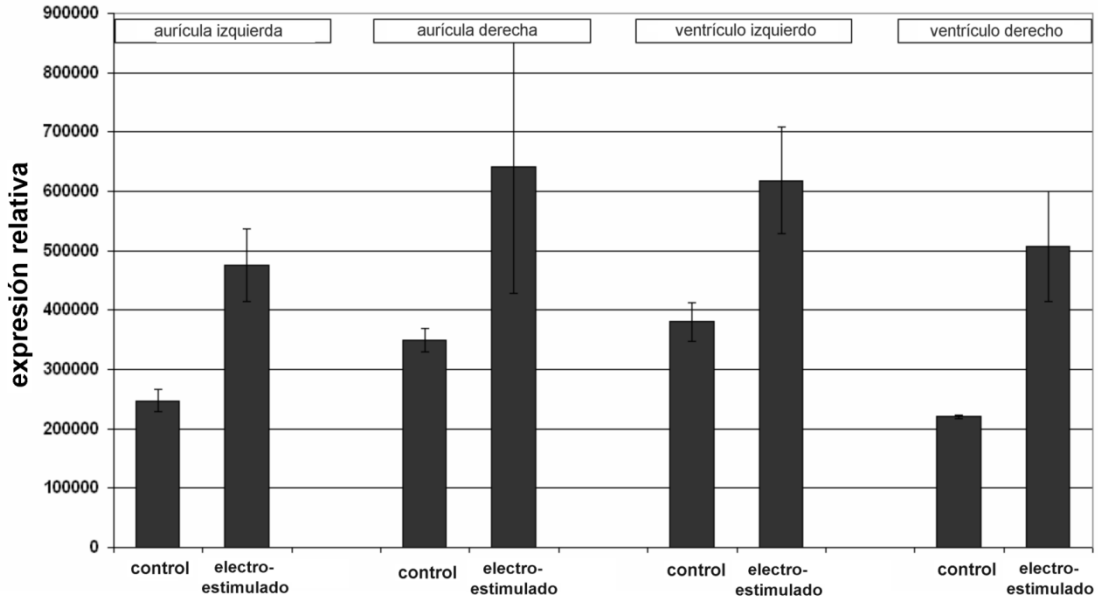


Figura 29

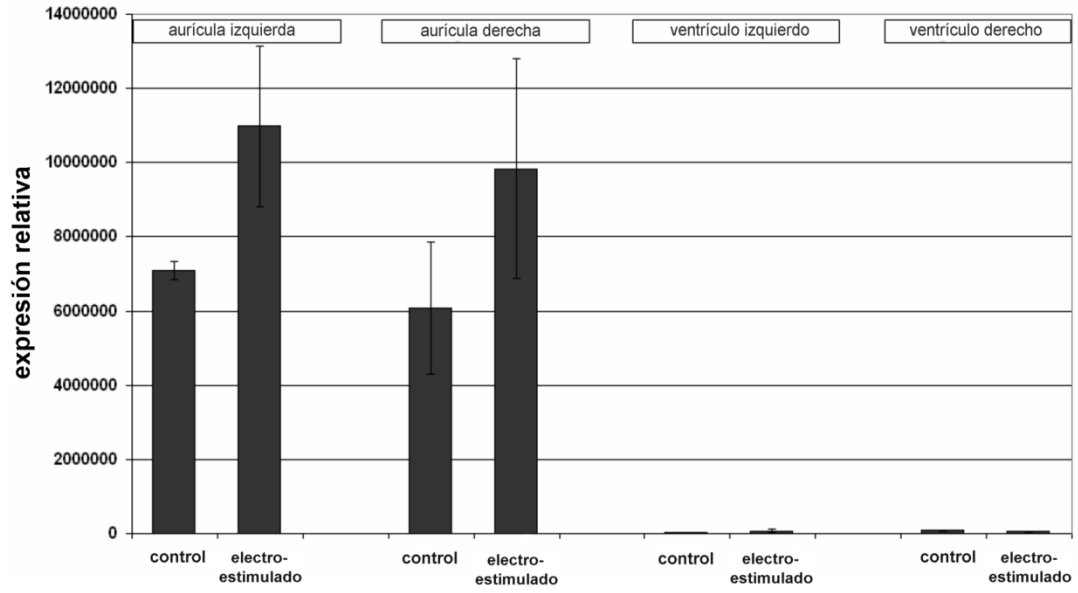
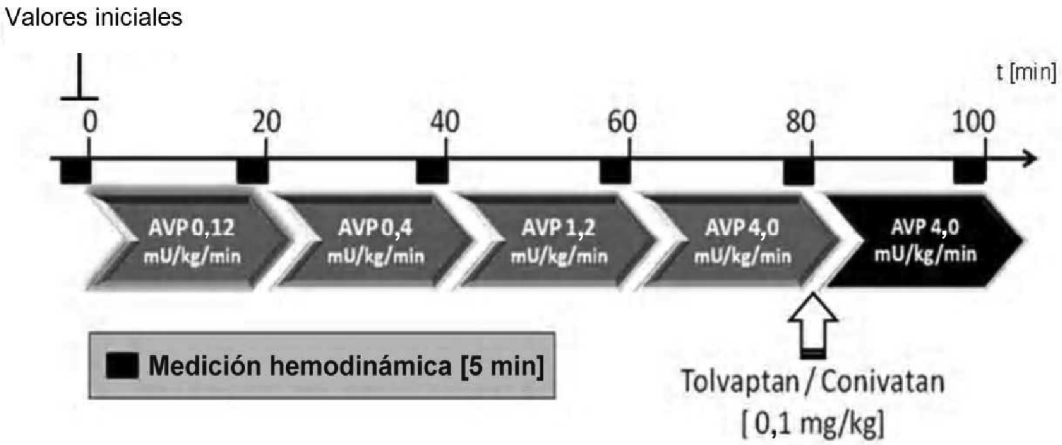


Figura 30


Valores iniciales
t [min]
0
20
40
60
80
100
AVP 0,12 mU/kg/min
AVP 0,4 mU/kg/min
AVP 1,2 mU/kg/min
AVP 4,0 mU/kg/min
AVP 4,0 mU/kg/min
Medición hemodinámica [5 min]
Tolvaptan / Conivatan
[0,1 mg/kg]