

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 763 335**

51 Int. Cl.:

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.04.2016 PCT/EP2016/058810**

87 Fecha y número de publicación internacional: **27.10.2016 WO16170014**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.04.2016 E 16719356 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.10.2019 EP 3285772**

54 Título: **Un análogo de trifluoroetil quinoleína específico para uso en el tratamiento del síndrome de Sjögren**

30 Prioridad:

21.04.2015 GB 201506786

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

28.05.2020

73 Titular/es:

**UCB BIOPHARMA SRL (100.0%)
Allé de la Recherche 60
1070 Brussels, BE**

72 Inventor/es:

**ALLEN, RODGER ANTHONY;
BARONE, FRANCESCA;
FAHY, WILLIAM ANTHONY y
NAYAR, SABA**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 763 335 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

Un análogo de trifluoroetil quinoleína específico para uso en el tratamiento del síndrome de Sjögren

La presente invención se refiere al nuevo uso terapéutico de un compuesto químico conocido. Más particularmente, la presente invención se refiere al uso de un derivado de quinolina sustituido específico que comprende una cadena secundaria de etilo fluorada, en el tratamiento del síndrome de Sjögren.

La N-((R)-1-[8-cloro-2-(1-oxipiridin-3-il) quinolein-3-il]-2,2,2-trifluoroetil)-pirido [3,2-d]pirimidin-4-ilamina se describe específicamente en el documento WO 2012/032334. Los compuestos descritos en esa publicación se consideran beneficiosos como agentes farmacéuticos, especialmente en el tratamiento de afecciones inflamatorias, autoinmunitarias, cardiovasculares, neurodegenerativas, metabólicas, oncológicas, nociceptivas y oftálmicas adversas.

Sin embargo, en el documento WO 2012/032334 no hay ninguna mención ni sugerencia específica de que los compuestos descritos allí podrían ser beneficiosos en el tratamiento del síndrome de Sjögren.

El síndrome de Sjögren es un trastorno autoinmunitario crónico en el que las células inmunológicas atacan y destruyen las glándulas exocrinas, principalmente las glándulas salivales y lagrimales. El síntoma característico del síndrome de Sjögren es una sequedad generalizada, en particular de la boca (xerostomía) y los ojos (xeroftalmia; queratoconjuntivitis seca). El síndrome de Sjögren puede causar sequedad de la piel, la nariz y la vagina, y puede afectar otros órganos corporales, incluidos los riñones, los vasos sanguíneos, los pulmones, el hígado, el páncreas, el cerebro y el sistema nervioso periférico. El síndrome de Sjögren se clasifica clínicamente como un trastorno "primario" (que ocurre por sí mismo), o como una condición "secundaria", por lo que ocurre en asociación con al menos otra enfermedad del tejido conjuntivo, como el lupus eritematoso sistémico o la artritis reumatoide.

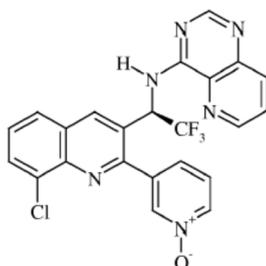
Se cree que el síndrome de Sjögren se presenta en un porcentaje de hasta el 3% de la población, con poca o ninguna variación en la prevalencia geográfica. Las mujeres son nueve veces más propensas que los hombres a desarrollar la enfermedad. La edad promedio de inicio es de 40 - 60 años, aumentando generalmente con la edad la prevalencia del síndrome de Sjögren.

El síndrome de Sjögren puede dañar órganos vitales del cuerpo con síntomas que pueden estabilizarse, empeorar o remitir. Algunos pacientes pueden experimentar solo síntomas leves de sequedad de ojos y boca, mientras que otros padecen ciclos debilitantes de buena salud seguidos de enfermedades graves. Mientras que muchos pacientes pueden tratar sus síntomas individualmente, otros están obligados a soportar visión borrosa, molestias oculares constantes, infecciones recurrentes en la boca, inflamación de las glándulas parótidas, ronquera y dificultad para tragar y comer. La fatiga debilitante y el dolor en las articulaciones pueden reducir seriamente la calidad de vida.

Actualmente no se conoce ninguna cura para el síndrome de Sjögren, ni existe un tratamiento eficaz para restablecer la secreción glandular. El tratamiento existente es generalmente sintomático y de apoyo, e incluye terapia de reemplazo de la humedad (por ejemplo, para aliviar los síntomas de sequedad de ojos y boca) y varias formas de lubricación. Existen medicamentos con receta, que incluyen ciclosporina para ayudar en el tratamiento del ojo seco crónico, y cevimeline o pilocarpina para ayudar a estimular el flujo salival. Los agentes antiinflamatorios, como el metotrexato y la hidroxicloraquina, se han recetado también para mejorar los síntomas musculoesqueléticos. Sin embargo, no es ideal ninguno de los medicamentos actualmente disponibles, aunque solo sea por su amplia gama de efectos secundarios graves.

Ahora se ha encontrado sorprendentemente que la N-((R)-1-[8-cloro-2-(1-oxipiridin-3-il) quinolein-3-il]-2,2,2-trifluoroetil)-pirido [3,2-d]pirimidin-4-ilamina es efectiva en un modelo animal *in vivo* del síndrome de Sjögren.

En consecuencia, la presente invención proporciona N-((R)-1-[8-cloro-2-(1-oxipiridin-3-il) quinolein-3-il]-2,2,2-trifluoroetil)-pirido [3,2-d]pirimidin-4-ilamina de fórmula (A):



(A)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento y/o la prevención del síndrome de Sjögren.

La presente invención proporciona también el uso en un método para el tratamiento y/o la prevención del síndrome de Sjögren, método que comprende administrar a un paciente necesitado de dicho tratamiento una cantidad efectiva de N-((R)-1-[8-cloro-2-(1-oxipiridin-3-il) quinolein-3-il]-2,2,2-trifluoroetil)-pirido[3,2-d]pirimidin-4-ilamina de fórmula (A) como se presenta anteriormente, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

- 5 Para el tratamiento efectivo y/o prevención del síndrome de Sjögren, se puede proporcionar una composición farmacéutica que comprende N-((R)-1-[8-cloro-2-(1-oxipiridin-3-il)quinolein-3-il]-2,2,2-trifluoroetil)-pirido[3,2-d]pirimidin-4-ilamina de fórmula (A) como se presenta anteriormente, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en asociación con un vehículo farmacéutico. Las composiciones farmacéuticas típicas pueden tomar una forma adecuada para administración oral, bucal, parenteral, nasal, tópica, oftálmica o rectal, o una forma adecuada para su administración mediante inhalación o insuflación.

10 Para la administración oral, las composiciones farmacéuticas pueden tomar la forma, por ejemplo, de comprimidos, pastillas, cápsulas, soluciones, jarabes o suspensiones, o pueden presentarse como producto seco para su reconstitución con agua u otro vehículo adecuado, antes de su uso. Para la administración bucal, las composiciones pueden tomar la forma de tabletas o pastillas. Para la administración parenteral, las composiciones pueden formularse para inyección, por ejemplo inyección en bolo o infusión, para administración subcutánea, o como una formulación de acción prolongada, por ejemplo una preparación de depósito que puede administrarse por implantación o por inyección intramuscular; las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo en ampollas de vidrio o envases multidosis, por ejemplo viales de vidrio, y pueden tomar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, o el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo agua estéril libre de pirógenos, antes de su uso. Para administración nasal o administración por inhalación, la composición puede tomar la forma de una presentación en aerosol para paquetes presurizados o un nebulizador. Para administración tópica, la composición puede tomar la forma de pomada o loción. Para administración oftálmica, la composición puede formularse como una suspensión micronizada o una pomada. Para la administración rectal, las composiciones pueden formularse como supositorios.

- 25 Las composiciones pueden formularse mediante métodos convencionales bien conocidos en la técnica farmacéutica, por ejemplo como se describe en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Pharmaceutical Press, 21ª edición, 2011.

30 Para uso en el tratamiento y/o en la prevención del síndrome de Sjögren, la N-((R)-1-[8-cloro-2-(1-oxipiridin-3-il) quinolein-3-il]-2,2,2-trifluoroetil)-pirido [3,2-d]pirimidin-4-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, puede administrarse adecuadamente a una dosis diaria de aproximadamente 1 ng/kg a 1000 mg/kg, generalmente de aproximadamente 2 ng/kg a 500 mg/kg, típicamente aproximadamente 5 ng/kg a 200 mg/kg, aproximadamente 10 ng/kg a 100 mg/kg, idealmente aproximadamente 10 ng/kg a 50 mg/kg, más particularmente aproximadamente 10 ng/kg a 40 mg/kg, de peso corporal. El ingrediente activo se administrará típicamente en un régimen de 1 a 4 veces al día.

- 35 Si se desea, la N-((R)-1-[8-cloro-2-(1-oxipiridin-3-il) quinolein-3-il]-2,2,2-trifluoroetil)-pirido [3,2-d]pirimidin-4-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, puede administrarse conjuntamente con otro agente farmacéuticamente activo, por ejemplo una molécula antiinflamatoria tal como metotrexato o hidroclicloroquina.

Se describen ahora aspectos específicos de la invención.

40 La N-((R)-1-[8-cloro-2-(1-oxipiridin-3-il) quinolein-3-il]-2,2,2-trifluoroetil)-pirido [3,2-d]pirimidin-4-ilamina [en adelante denominada "Compuesto (A)"] se investigó *in vivo* en un modelo inducible de linfocitopenia en glándulas salivales murinas, que imita el síndrome de Sjögren. Los resultados obtenidos se muestran en las gráficas adjuntas, en las que:

45 La Figura 1 muestra un análisis FACS (clasificación de células activadas por fluorescencia) del perfil de linfocitos en el día 15 después de la canulación en glándulas salivales de ratones tratados con vehículo o Compuesto (A) profilácticamente desde el día 0.

<p>Vehículo: n = 3 ratones</p> <p>Compuesto (A): n = 5 ratones</p> <p>células B MZ = células B de zona marginal</p> <p>células B FO = células B foliculares</p> <p>* p < 0,05</p> <p>** p < 0,01</p>
--

La Figura 2 muestra un análisis FACS del perfil de linfocitos en el día 15 después de la canulación en glándulas

salivales de ratones tratados con vehículo o con Compuesto (A) terapéuticamente desde el día 3 después de la canulación.

Vehículo: n = 4 ratones
Compuesto (A): n = 5 ratones
células B MZ = células B de zona marginal
células B FO = células B foliculares
* p < 0,05
** p < 0,01

- 5 La Figura 3 muestra la expresión génica de genes asociados con TLO (órgano linfoide terciario) en el día 15 después de la canulación en glándulas salivales de ratones tratados con vehículo o Compuesto (A) profilácticamente desde el día 0. Análisis cuantitativo de RT-PCR de transcritos de ARNm que codifican los genes indicados, normalizados al gen de limpieza. Los valores de expresión relativa presentados como RQ se calibraron con los valores de glándulas salivales postcanulación del día 0.

Vehículo: n = 3 ratones
Compuesto (A): n = 2 ratones
* p < 0,05

- 10 La Figura 4 muestra la expresión génica de genes asociados a TLO el día 15 después de la canulación en glándulas salivales de ratones tratados con vehículo o Compuesto (A) profilácticamente desde el día 0 o terapéuticamente desde el día 3 después de la canulación.

Vehículo: n = 3 ratones
Compuesto (A), día 0 post-canulación: n = 3 ratones
Compuesto (A), día 3 post-canulación: n = 3 ratones
* p < 0,05
** p < 0,01
*** p < 0,001

Método.

- 15 El compuesto (A) se evaluó en el modelo murino *in vivo* de formación de tejido linfoide ectópico inducible, descrito por M. Bombardieri et al. en J. Immunol, 2012, 189, 3767 - 3776, que es un modelo animal reconocido del síndrome de Sjögren.

- 20 Brevemente, se administró a ratones de tipo silvestre (C57BL/6) adenovirus 5 (AdV5) (10^8 ufp) con defectos de replicación a través de la canulación retrógrada de los conductos excretores de la glándula submandibular y se sacrificaron en momentos específicos después de la canulación. El compuesto (A), o control de vehículo, se administró diariamente mediante sonda por vía profiláctica y por vía terapéutica, comenzando el día 0 o el bien el día 3 después de la canulación, respectivamente. Para evaluar el estado de las células inmunes en glándulas salivales murinas aisladas, se utilizó citometría de flujo en suspensiones de células individuales y PCR cuantitativa en tiempo real para evaluar la expresión de proteínas y ARNm en las muestras.

- 25 *Digestión enzimática de glándulas salivales y citometría de flujo.*

Digestión de células estromales.

Las glándulas salivales infundidas con AdV5 con defectos en la replicación, de ratones a los que se les administró Compuesto (A) o bien vehículo, se aislaron de ratones sacrificados en diferentes instantes. Las glándulas se disecaron y se colocaron en RPMI-1640 (con 2% de FCS) (1 mL) en hielo. Una vez recogidas todas las glándulas salivales, se

5 retiró el RPMI-1640 y se reemplazó con una mezcla enzimática (RPMI con FCS al 2%, 0,8 mg/mL de Dispasa, 0,2 mg/mL de colagenasa P, y 0,1 mg/mL de DNasa I) (2 mL). Las glándulas salivales se cortaron en trozos pequeños y los tubos se incubaron a 37 °C en un baño de agua, con agitadores magnéticos. Al cabo de 20 minutos, los fragmentos de glándulas salivales se pipetearon con mucho cuidado, usando una pipeta de 1 mL, para romper aún más el tejido y liberar la mayoría de las células. La mezcla se reemplazó en el baño de agua y los fragmentos grandes se dejaron sedimentar durante 30 s, después de lo cual se eliminó la mezcla enzimática. Se añadió tampón FACS enfriado con hielo (0,5% de BSA, EDTA 2 mM en PBS) (10 mL) y se centrifugó (1800 rpm, 4 minutos, 4 °C). Después de la centrifugación, se añadió al tubo de digestión una mezcla reciente de enzimas (2 mL). El contenido se mezcló suavemente usando una pipeta de 1 mL y se incubó, con una agitación suave regular usando una pipeta de 1 mL. Después de 10 minutos, las células se mezclaron vigorosamente durante 30 s usando una pipeta de 1 mL. Los fragmentos se dejaron sedimentar nuevamente, se eliminó el sobrenadante y se añadió al sedimento de células previamente centrifugado, y se añadió al tubo de digestión una nueva mezcla de enzimas (2 mL). La mezcla de digestión se mezcló después vigorosamente usando una pipeta de 1 mL cada 5 minutos hasta que, cuando se mantuvo a la luz, quedó claro que todos los fragmentos de glándulas salivales restantes estaban completamente digeridos. Los sobrenadantes se centrifugaron después de cada extracción (1800 rpm, 4 minutos, 4 °C) hasta que, finalmente, cada tubo de recogida contenía todo el contenido celular de la glándula salival. Las células se filtraron a través de una malla de nylon de 70 µm y se contaron usando un hemocitómetro.

Análisis de citometría de flujo.

20 Las suspensiones de células individuales se incubaron con anticuerpos diluidos (100 µL) durante 30 minutos a 4 °C en tampón FACS enfriado con hielo (0,5% de BSA, EDTA 2 mM en PBS) con "cócteles" de los siguientes anticuerpos: CD45 PERCPY5.5 (1: 300) o CD45 eFluor780 (1: 800) clon 30-F11, CD3e PECY7 o FITC (1: 100) clon 145-2C11, CD4 efluor450 (1: 100) clon RM4-5, CD62L PE (1: 500) clon MEL-14, CD44 FITC (1: 500) clon IM7, CD8a APC (1: 400) clon 53-6.7, B220 FITC (1: 200) o B220 efluor450 (1: 50) clon RA3-6B2, CD23 PE (1: 200) clon B3B4, CD 19 PE (1: 200) o APC-CY7 (1: 100) clon 1D3 y CD5 FITC (1: 100) clon 53-7.3 (todo de eBioscience) y CD21 APC (1:50) clon 7G6 (de BD Biosciences). La tinción intracelular para Ki67 se llevó a cabo usando el conjunto de tampón de fijación/permeabilización (eBioscience) de acuerdo con el protocolo del fabricante. En resumen, después de la tinción de la superficie con cócteles de los anticuerpos deseados, las células se lavaron en tampón FACS, se resuspendieron en tampón de fijación/permeabilización (eBioscience) (350 µL) y se incubaron durante 30 minutos a 4 °C. Las células se lavaron dos veces con tampón de permeabilización (eBiosciences) a 1800 rpm durante 4 minutos y posteriormente se incubaron con Ki67 Alexa-Fluor647 (1:50) clon B56 (BD Biosciences) a 4 °C durante 20 minutos. Las células se lavaron después con tampón de lavado, se resuspendieron en tampón FACS y se analizaron usando un Cyan-ADP (Dako) con compuertas de dispersión frontal/lateral configuradas para excluir células no viables. Los datos se analizaron con el software FlowJo (Tree Star).

Resultados.

35 Se observó una disminución significativa en el número de células T y B *in vivo* en glándulas salivales canuladas de ratones tratados profilácticamente con el Compuesto (A), en comparación con ratones tratados con vehículo, según lo confirmado por citometría de flujo en linfocitos aislados (Figura 1). Del mismo modo, se observó una disminución significativa en el número de células T y B *in vivo* en glándulas salivales canuladas de ratones tratados terapéuticamente con Compuesto (A) desde el día 3 posterior a la canulación, en comparación con ratones tratados con vehículo, según lo confirmado por citometría de flujo en linfocitos aislados (Figura 2).

El perfil de expresión génica de los genes asociados a TLO se inhibió también significativamente en ratones tratados profilácticamente con el Compuesto (A) (Figuras 3 y 4). Esta disminución se conservó en ratones tratados terapéuticamente desde el día 3 después de la canulación (Figura 4).

Conclusión.

45 Estos estudios demuestran que el Compuesto (A) es efectivo, cuando se dosifica profiláctica o terapéuticamente, en la disgregación de los focos inflamatorios y la resolución de la inflamación de la glándula salival en un modelo animal *in vivo* reconocido del síndrome de Sjögren.

REIVINDICACIONES

1. N-((R)-1-[8-cloro-2-(1-oxipiridin-3-il) quinolein-3-il]-2,2,2-trifluoroetil)-pirido [3,2-d]pirimidin-4-ilamina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en el tratamiento y/o la prevención del síndrome de Sjögren.
 2. El compuesto para el uso según la reivindicación 1, en donde el síndrome de Sjögren es el síndrome de Sjögren primario.
- 5

Figura 1

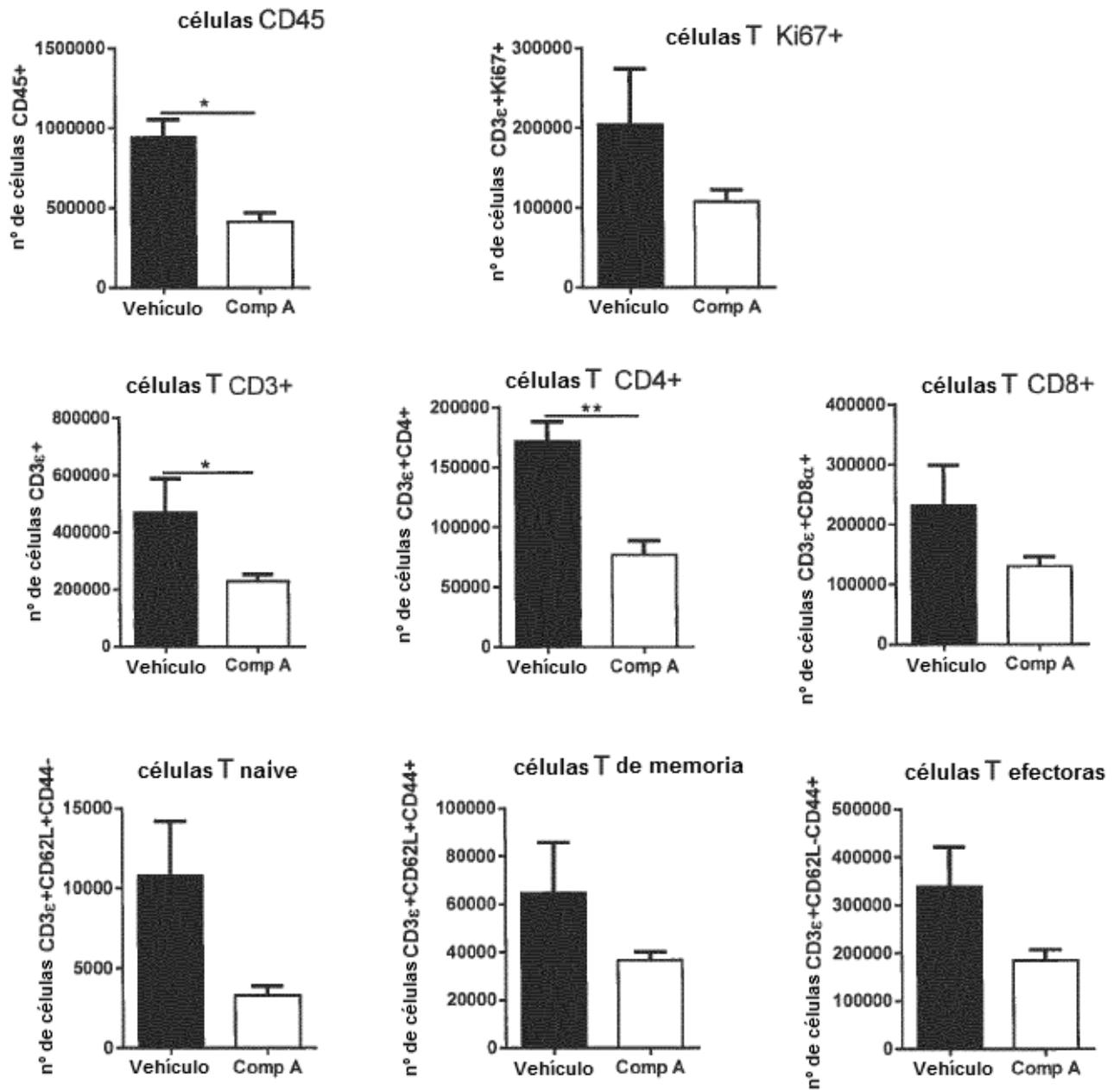


Fig. 1 (cont.)

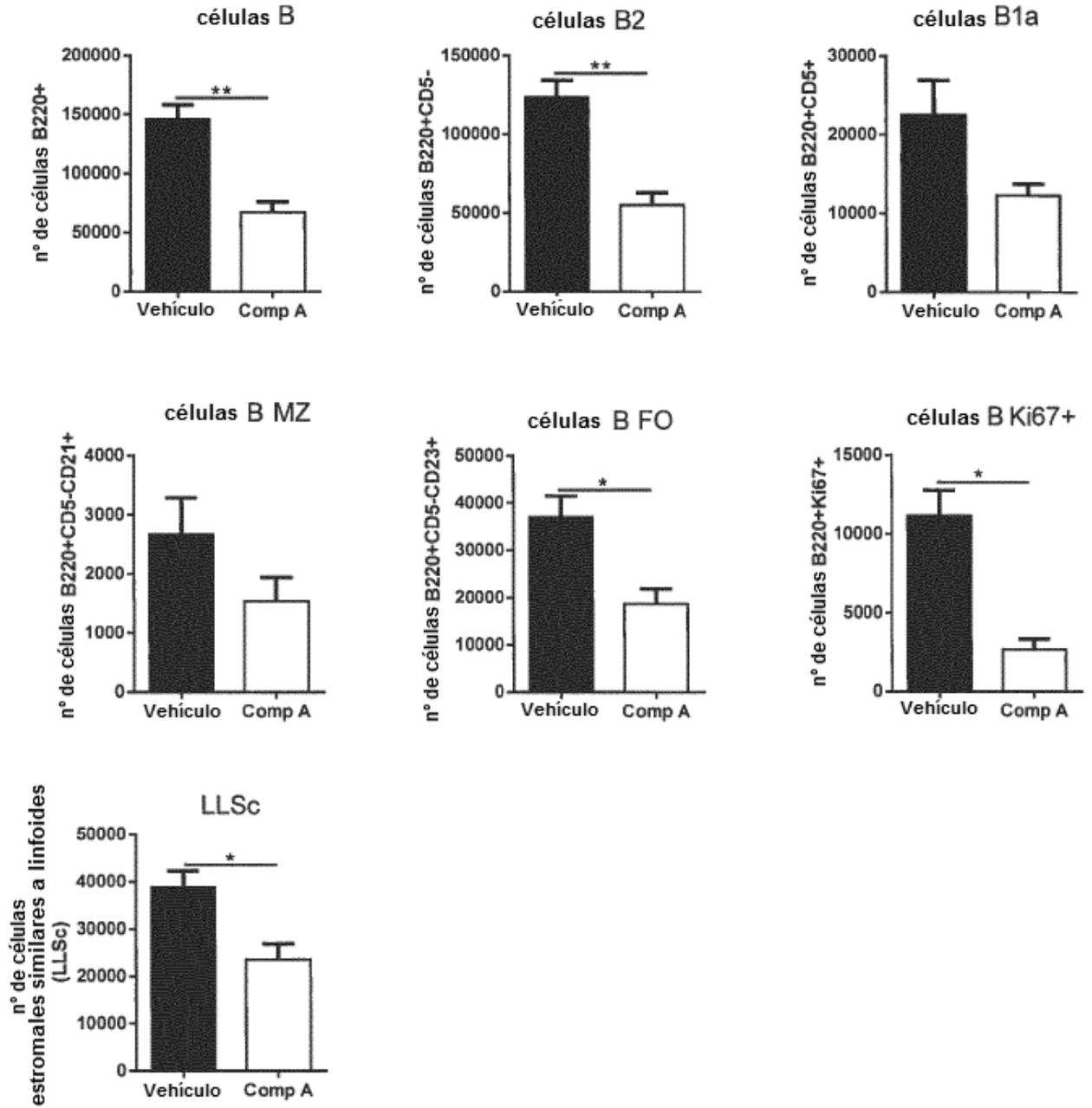


Figura 2

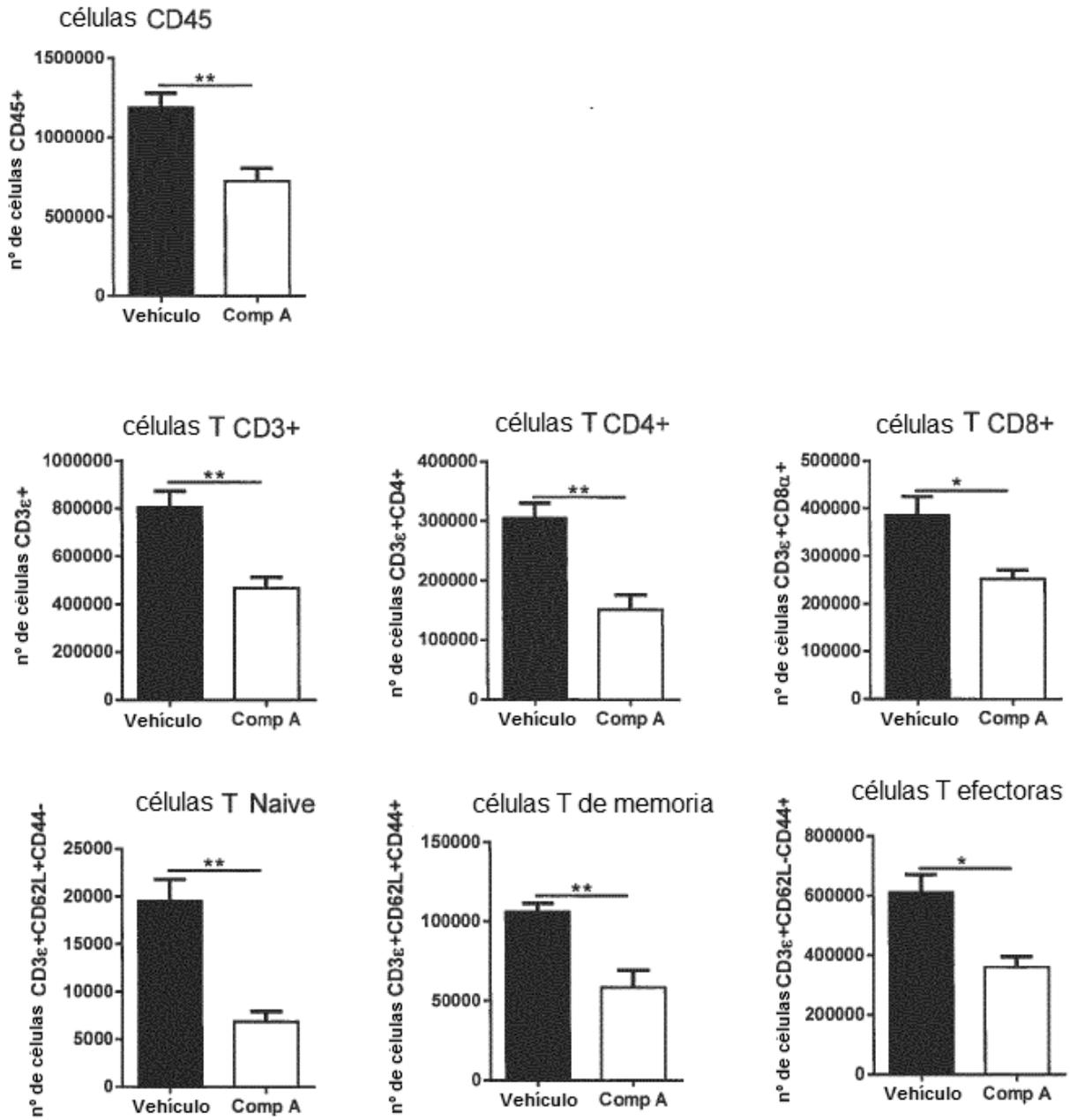


Fig. 2 (cont.)

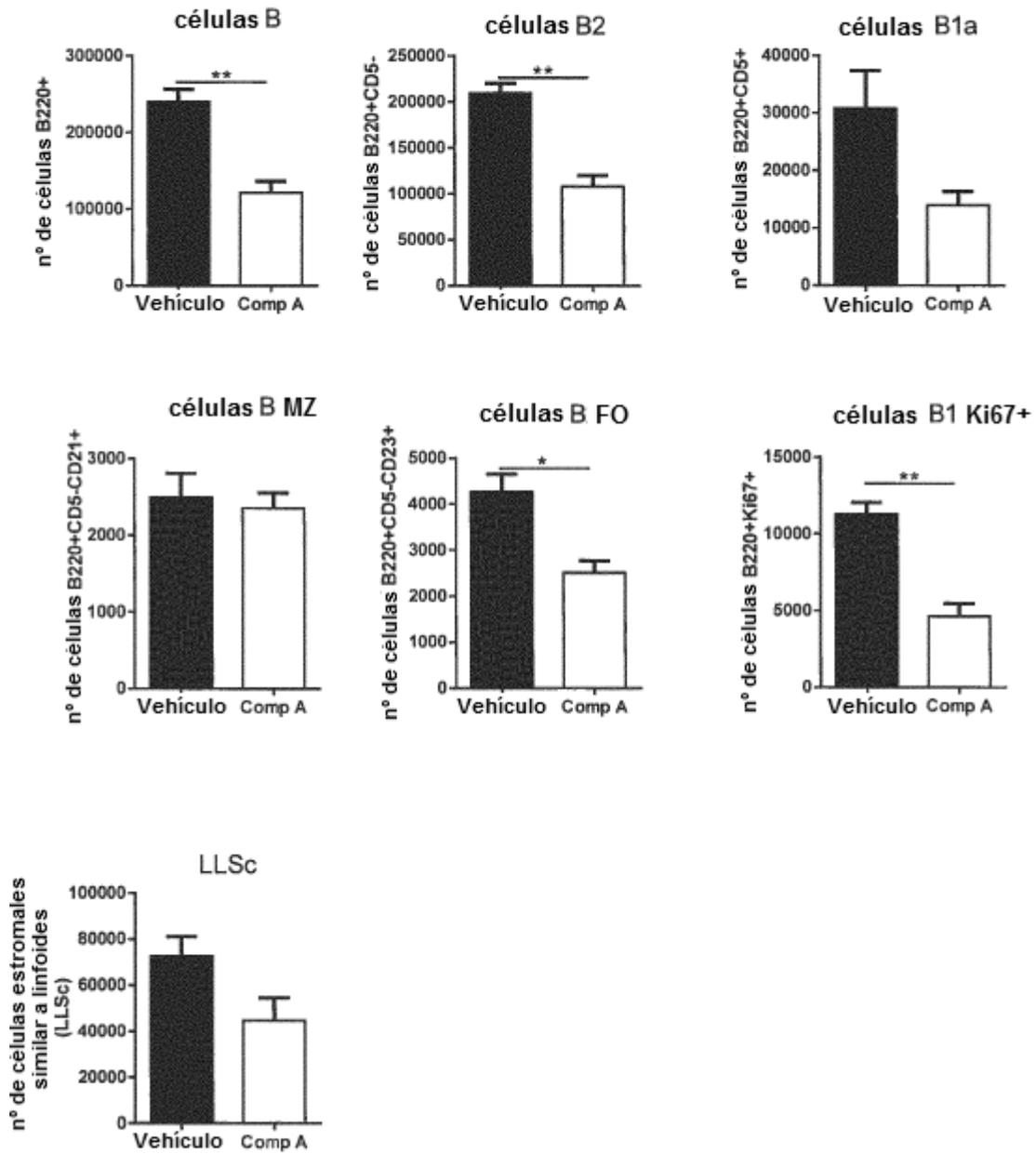


Figura 3

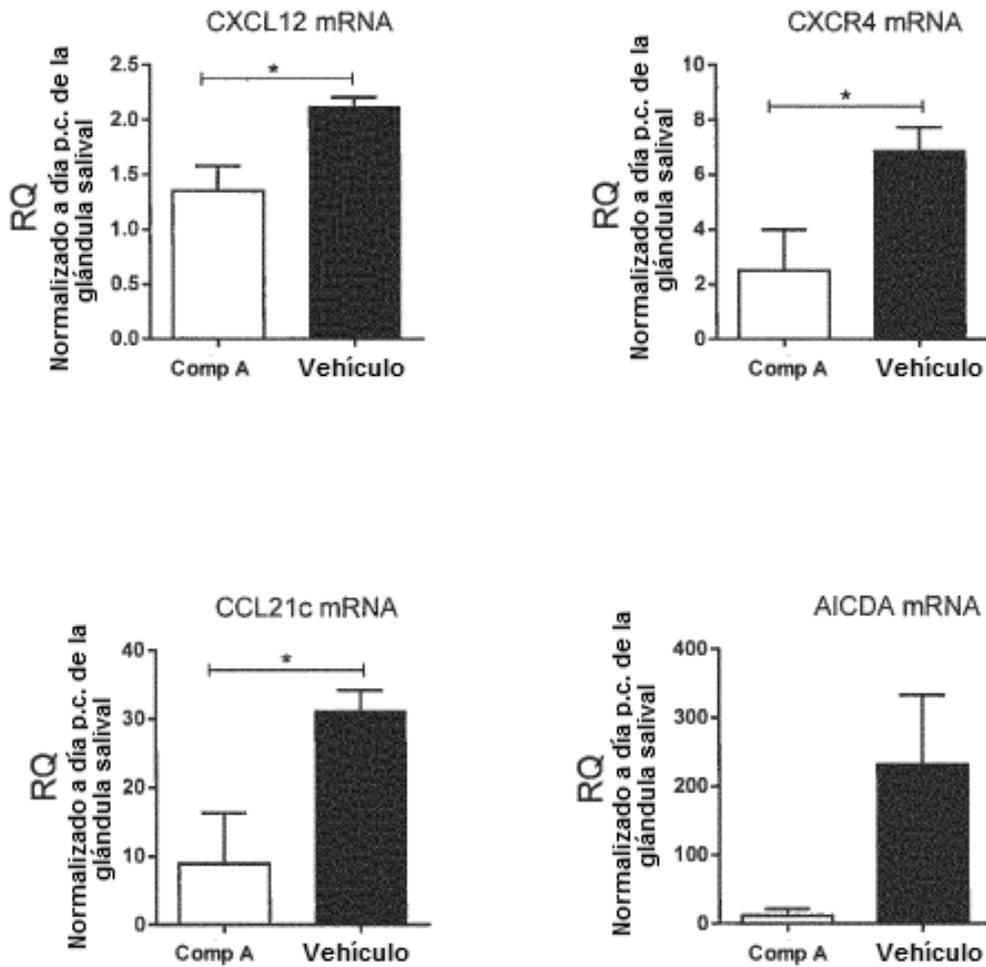


Figura 4

