(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 768 995**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/445 (2006.01)
A61K 38/47 (2006.01)
A61P 9/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.11.2010** **E 15201785 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.11.2019** **EP 3028701**

(54) Título: **1-desoxigalactonojirimicina para el uso en el tratamiento de una enfermedad cardíaca**

(30) Prioridad:

17.11.2009 US 261831 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.06.2020

(73) Titular/es:

BAYLOR RESEARCH INSTITUTE (100.0%)
3310 Live Oak Street, Suite 501
Dallas, TX 75204, US

(72) Inventor/es:

SCHIFFMANN, RAPHAEL;
MOCHEL, FANNY;
SWEETMAN, LAWRENCE y
FORNI, SABRINA

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 768 995 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

1-desoxigalactonojirimicina para el uso en el tratamiento de una enfermedad cardíaca

Campo técnico de la invención

La presente invención se refiere en general al campo de los marcadores de cardiopatías, y más particularmente a la detección de niveles elevados de globotriaosilceramida (Gb3) urinaria en pacientes cardíacos sin enfermedad de Fabry.

Antecedentes de la invención

Sin limitar el alcance de la invención, sus antecedentes se describen en relación con los marcadores de cardiopatías y los métodos de detección de Gb3 y otros marcadores glucolipídicos en fluidos corporales.

La Patente de Estados Unidos Nº 7.445.886 expedida a Grior y cols. (2008) divulga una prueba para el factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF, por sus siglas en inglés), un marcador bioquímico clínicamente útil del riesgo vascular. La determinación del riesgo incluye la etapa de detectar en la sangre de una persona la concentración de MIF como un marcador del riesgo cardiovascular para la persona. El método de la patente '886 puede comprender además la etapa de asignar a la persona una medida de riesgo cardiovascular proporcional a la concentración de MIF, y/o prescribir para la persona una modalidad de tratamiento cardiovascular según la concentración de MIF. El método es útil como un cribado primario, y se puede usar junto con o como un sustituto de pruebas adicionales, tales como una prueba de esfuerzo, un ensayo de CRP, un ensayo de LDL, etc. La etapa de detección se puede repetir a lo largo de intervalos de tiempo y/o tratamiento para verificar el cambio en el riesgo cardiovascular para la persona a lo largo del tiempo y/o el tratamiento.

La Solicitud de Patente de Estados Unidos Nº 20040132688 (Griffin y cols., 2003) se refiere a la deficiencia de glucosilceramida plasmática como factor de riesgo para la trombosis y modulador de la proteína C anticoagulante. Según Griffin, la glucosilceramida (GlcCer) y otros glucolípidos neutros tales como el homólogo globotriaosilceramida (Gb3Cer) que contiene Glc añadidos exógenamente prolongaban dependientemente de la dosis los tiempos de coagulación de plasma normal en presencia, pero no en ausencia de APC: proteína S, indicando que GlcCer o Gb3Cer pueden potenciar la actividad anticoagulante de la ruta de la proteína C. En estudios que usan proteínas purificadas, la desactivación de factor Va por APC: proteína S era potenciada por GlcCer sola y por GlcCer, globotriaosilceramida, lactosilceramida y galactosilceramida en vesículas de múltiples componentes que contienen fosfatidilserina y fosfatidilcolina. Así, la invención de Griffin proporciona glucolípidos neutros tales como GlcCer y Gb3Cer, como cofactores anticoagulantes que contribuyen a la actividad antitrombótica de la ruta de la proteína C. La invención de Griffin indica que una deficiencia de GlcCer plasmática es un factor de riesgo para la trombosis. Se proporcionan métodos para determinar individuos con riesgo de trombosis, métodos de tratamiento, así como métodos de cribado de factores antitrombóticos a partir de glucolípidos neutros.

Sumario de la invención

La presente invención describe 1-desoxigalactonojirimicina (DGJ) o una sal de la misma para el uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad o afección cardíaca en un sujeto que no tenga enfermedad de Fabry. Aspectos adicionales de la invención se indican en las reivindicaciones dependientes.

Breve descripción de los dibujos

Para una comprensión más completa de las características y las ventajas de la presente invención, se hace ahora referencia a la descripción detallada de la invención junto con las figuras adjuntas y en las que:

La FIG. 1A es una gráfica que muestra la distribución de concentración de Gb3 en todos los especímenes de orina disponibles de pacientes cardíacos incluidos en el estudio de la presente invención (N=294). Los datos de los pacientes cardíacos se analizaron con el programa Systat y se expresaron como ng de Gb3/tarjeta (ml de orina);

la FIG. 1B es una gráfica que muestra la distribución de concentración de Gb3 en el grupo de pacientes mostrado en la FIG. 1A, pero los valores atípicos (Gb3 > 700 ng/tarjeta) se excluyeron a fin de mostrar claramente la distribución de la concentración;

la FIG. 2 es una representación que muestra la distribución de concentración de Gb3 en el mismo grupo de pacientes, pero limitada a pacientes con Gb3 < 400 ng/tarjeta a fin de mostrar claramente la distribución de la concentración;

la FIG. 3 es una gráfica que muestra la distribución de concentración de Gb3 en una población de control normal (N= 157); y

la FIG. 4 es una representación combinada de la distribución de concentración de Gb3 en controles sanos (N = 157) y pacientes cardíacos (N = 294).

Descripción detallada de la invención

Aunque la elaboración y el uso de diversas realizaciones de la presente invención se analizan con detalle posteriormente, se debe apreciar que la presente invención proporciona muchos conceptos de la invención aplicables que se pueden incorporar en una amplia variedad de contextos específicos. Las realizaciones específicas analizadas en la presente memoria son meramente ilustrativas de modos específicos para elaborar y usar la invención y no delimitan el alcance de la invención.

Para facilitar la comprensión de esta invención, se define posteriormente un número de términos. Los términos definidos en la presente memoria tienen los significados que son entendidos comúnmente por una persona de experiencia normal en las áreas aplicables a la presente invención. Términos tales como "un", "uno(a)" y "el(la)" no pretenden referirse solo a una entidad singular, sino que incluyen la clase general de la que un ejemplo específico se puede usar para ilustración. La terminología de la presente memoria se usa para describir realizaciones específicas de la invención, pero su utilización no delimita la invención, excepto según se esboza en las reivindicaciones.

La presente invención describe la detección de niveles elevados de globotriaosilceramida (Gb3) urinaria, que es un factor de riesgo de una variedad de anormalidades cardíacas adquiridas en la población general (sin enfermedad de Fabry). Esto sugiere el cribado de pacientes de alto riesgo con respecto a cardiopatías midiendo los niveles de Gb3 urinaria. Los presentes inventores sugieren que disminuir los niveles de Gb3 puede ser un modo de disminuir el riesgo de cardiopatías en la población general sin enfermedad de Fabry. Los niveles de Gb3 se pueden disminuir mediante chaperonas farmacológicas que se sabe que son capaces de incrementar los niveles de α-galactosidasa A natural en células o moléculas que funcionan como una terapia de reducción del sustrato o una terapia de sustitución enzimática para pacientes con bajos niveles de α-galactosidasa A. Actualmente, una Gb3 urinaria elevada se ha asociado exclusivamente con el trastorno genético denominado enfermedad de Fabry y nunca se ha descrito en la población general con cardiopatías.

La Gb3 es un glucoesfingolípido que se acumula en la enfermedad de Fabry y se cree que es el principal metabolito nocivo. La enfermedad de Fabry está ligada al cromosoma X y está provocada por una deficiencia de la enzima lisosómica α-galactosidasa A que da como resultado la acumulación de Gb3 en todos los órganos (particularmente en el corazón y el riñón) y muchos tipos de células y en la orina. Esta enfermedad está asociada particularmente con un notable incremento del riesgo de apoplejía, cardiopatía (cardiomiopatía hipertrófica, defectos del ritmo y la conducción, arteriopatía coronaria y anormalidades valvulares), e insuficiencia renal proteinúrica crónica; moléculas que pueden corregir la modificación epigenética subyacente asociada con el incremento de los niveles de Gb3 (es decir, inhibidores de HDAC para modificaciones de la acetilación, modificaciones de los centros de fosforilación mediante sustitución de aminoácidos); y/o moléculas que pueden afectar a la expresión y/o la función de genes modificadores que se sabe que interactúan con el gen que codifica α-galactosidasa A o los genes sintéticos de Gb3 o sus precursores tales como Gb3 sintasa (*A4GALT*).

Aunque la enfermedad de Fabry es rara, las complicaciones cardíacas, la enfermedad renal progresiva y la apoplejía descritas anteriormente son de naturaleza similar a las observadas comúnmente en la población general. La globotriaosilesfingosina o Lyso-Gb3 también puede ser un metabolito nocivo relacionado con Fabry y se puede incrementar en la orina en pacientes con enfermedad de Fabry y pacientes con cardiopatías.[2]

Por lo tanto, los presentes inventores cribaron una gran población de pacientes con una variedad de anormalidades cardíacas con respecto a la enfermedad de Fabry. Estos pacientes cardíacos se criban usando Gb3 urinaria (que se sabe que es elevada en la enfermedad de Fabry), la actividad de α-galactosidasa A en sangre y la secuenciación del gen GLA (el gen de la enfermedad de Fabry).

Los inventores encontraron que los pacientes con cardiopatías tienen Gb3 urinaria mayor que la esperada, aunque no tengan mutaciones en el gen GLA (son pacientes sin enfermedad de Fabry) sugiriendo que Gb3 y su metabolismo están implicados en las cardiopatías en general. La anormalidad en Gb3 está asociada con una actividad de α-galactosidasa A menor que la normal y posiblemente variación de secuencia del gen GLA que no provoca enfermedad. Las variaciones no genéticas en la actividad enzimática de la α-galactosidasa A que puede estar asociada con Gb3 elevada en órganos, tejido y orina pueden estar relacionadas con: (i) modificaciones epigenéticas - es decir cambios en la expresión génica provocados por mecanismos distintos a los cambios en la secuencia de DNA subyacente – tales como modificaciones postraduccionales (especialmente metilación pero también acetilación, ubiquitilación, fosforilación, sumoilación) o RNA interferentes pequeños (siRNA, por sus siglas en inglés) que pueden modular la expresión génica transcripcional a través de modulación epigenética de promotores elegidos como diana; y/o con (ii) interacciones epistáticas - es decir variantes genéticas en uno o más genes distintos (llamados genes modificadores) que interactúa o interactúan con los genes que codifican las

enzimas lisosómicas. Otros mecanismos todavía indeterminados no relacionados con la actividad enzimática de la α-galactosidasa A pueden representar un papel.

Por encima del 20% de los primeros 220 pacientes adultos no seleccionados con una variedad de anormalidades cardíacas adquiridas (incluyendo arteriopatía coronaria, arritmia, bloqueos de la conducción y valvulopatía) tenía niveles elevados de Gb3 urinaria. El límite superior de la normalidad se considera 200 ng/ml de Gb3. Tres pacientes tenían un nivel superior a 1.000 (5 veces el límite superior de la normalidad). Hasta ahora, en los pacientes probados, los niveles elevados de Gb3 no se han asociado con mutaciones patógenas en el gen *GLA*. Cuando la distribución de niveles de Gb3 urinaria en las poblaciones cardíaca y de control sana se comparan, está claro que la población cardíaca es significativamente diferente de los controles sanos.

Método para el ensayo de globotriaosilceramida urinaria: Los presentes inventores emplearon espectrometría de masas en tándem (MS/MS, por sus siglas en inglés) por cromatografía de líquidos de resolución ultraalta (UPLC, por sus siglas en inglés) para la determinación cuantitativa de isoformas de globotriaosilceramida (Gb3) con diferentes componentes de ácido graso en orina secada sobre tarjetas de papel de filtro. Un mililitro de orina secado sobre un cuadrado de papel de filtro de 5 x 5 cm cuadrados se extrae con metanol usando C17-Gb3 como patrón interno. Se inyectaron diez microlitros en una UPLC Acquity para la separación cromatográfica de isoformas de Gb3 usando un gradiente rápido de metanol/agua con una columna de UPLC C8 BEH, 1 x 50 mm, 1,7 µm a 60°C, con un tiempo de recorrido total de 3 minutos, incluyendo el reequilibrado de la columna. La Gb3 se analiza con una MS/MS Quattro Premier usando ionización de electropulverización positiva. Transiciones de verificación de la reacción múltiples son m/z 1060→898 para el patrón interno C17-Gb3 y m/s 1046 →884, 1074→912, 1102→940, 1128→966, 1130→968, 1156→994, 1158→996, 1174→1012 para abarcar ocho isoformas de Gb3 principales. Las áreas de los picos de los cromatogramas de MRM para las isoformas se usan con curvas estándar para calcular nanogramos de Gb3 por ml de orina.

Se analizaron especímenes de orina de pacientes cardíacos incluidos en el estudio con el programa Systat y los resultados se resumen en la FIG. 1A y se expresan como ng de Gb3/tarjeta (ml de orina). Los resultados para pacientes con niveles menores de 700 ng/ml se representaron en la FIG. 1B y se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Análisis estadístico de pacientes que tienen niveles de Gb3 urinaria < 700 ng/ml.

	ng/ml
Nº de casos	220
Mínimo	37,000
Máximo	84,000
Intervalo	447,000
Mediana	129,500
Media	150,077
Desv. Estándar	77,486
C.V.	0,516
Método = CLEVELAND	
1%	37,000
5%	63,000
10%	75,000
20%	90,000
25%	94,500
30%	105,500
40%	117,000
50%	129,500
60%	145,500
70%	166,000
75%	174,000
80%	204,000
90%	260,500
95%	315,000
99%	426,000

Los resultados para pacientes con niveles menores de 400 ng/ml se representaron como se muestra en la FIG. 2 y los análisis estadísticos se muestran en la Tabla 2.

Los niveles de Gb3 en la población normal (N = 157) se muestran en la FIG. 3. La FIG. 4 es una representación combinada que muestra los resultados obtenidos para la población cardíaca (N = 294) y el grupo de control sano (N = 157).

El uso de la palabra "un" o "uno(a)", cuando se usa junto con el término "que comprende" en las reivindicaciones y/o la memoria descriptiva, puede significar "uno", pero también es coherente con el significado de "uno o más", "al menos uno" y "uno o más de uno". El uso del término "o" en las reivindicaciones se usa para significar "y/o" a menos que se indique explícitamente que se refiere solamente a alternativas o las alternativas sean mutuamente exclusivas, aunque la divulgación apoye una definición que se refiera solo a alternativas e "y/o". A lo largo de esta solicitud, el término "aproximadamente" se usa para indicar que un valor incluye la variación inherente de error para el dispositivo, el método empleado para determinar el valor o la variación que exista entre los sujetos del estudio.

Según se usa en esta memoria descriptiva y la reivindicación o reivindicaciones, las palabras "comprender" (y cualquier forma de comprender, tal como "comprenden" y "comprende"), "tener" (y cualquier forma de tener, tal como "tienen" y "tiene"), "incluir" (y cualquier forma de incluir, tal como "incluye" e "incluyen") o "contener" (y cualquier forma de contener, tal como "contiene" y "contienen") son inclusivos y abiertos y no excluyen elementos o etapas del método no citados adicionales.

El término "o combinaciones de los mismos", según se define en la presente memoria, se refiere a todas las permutaciones y combinaciones de los elementos listados que preceden al término. Por ejemplo, "A, B, C o combinaciones de los mismos" pretende incluir al menos uno de: A, B, C, AB, AC, BC o ABC y, si el orden es importante en un contexto particular, también BA, CA, CB, CBA, BCA, ACB, BAC o CAB. Continuando con este ejemplo, se incluyen expresamente combinaciones que contienen repeticiones de uno o más elementos o términos, tales como BB, AAA, MB, BBC, AAABCCCC, CBBAAA, CABABB, etc. El experto entenderá que típicamente no hay límite para el número de elementos o términos en cualquier combinación, a menos que sea evidente otra cosa a partir del contexto.

REFERENCIAS

Patente de Estados Unidos Nº 7.445.886: Macrophage migration inhibitory factor as a marker for cardiovascular risk.

Patente de Estados Unidos Nº 20040132688: Plasma glucosylceramide deficiency as risk factor for thrombosis and modulator of anticoagulant protein C.

[1] http://www.medicalnewstoday.com/articles/71159.php

[2] Johannes M. Aerts, Johanna E. Groener, Sijmen Kuiper, Wilma E. Donker-Koopman Anneke Strijland, Roelof Ottenhoff, Cindy van Roomen, Mina Mirzaian, Frits A. Wijburg, Gabor E. Linthorst, Anouk C. Vedder, Saskia M. Rombach, Josanne Cox-Brinkman, Pentti Somerharju‡, Rolf G. Boot, Carla E. Hollak, Roscoe O. Brady y Ben J. Poorthuis, (2008), "Elevated globotriaosylsphingosine is a hallmark of Fabry disease", PNAS, 105(8), 2812-2817.

REIVINDICACIONES

1. 1-desoxigalactonojirimicina (DGJ) o una sal de la misma para el uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad o afección cardíaca en un sujeto que no tenga enfermedad de Fabry.

2. DGJ o una sal de la misma para el uso según la reivindicación 1, en donde la DGJ se administra en una concentración tal que el nivel de globotriaosilceramida (Gb3) en una muestra de orina del sujeto sea 200 ng/ml o menor.

3. DGJ o una sal de la misma para el uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde la sal es hidrocloruro de 1-desoxigalactonojirimicina (hidrocloruro de migalastat).

4. DGJ o una sal de la misma para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el sujeto no tiene predisposición genética a la enfermedad de Fabry.

5. DGJ o una sal de la misma para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el sujeto es un paciente cardíaco sin enfermedad de Fabry.

6. DGJ o una sal de la misma para el uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la enfermedad o afección cardíaca es cardiomiopatía hipertrófica, un defecto del ritmo o la conducción cardíacos, arteriopatía coronaria, arritmia, un bloqueo de la conducción o valvulopatía.

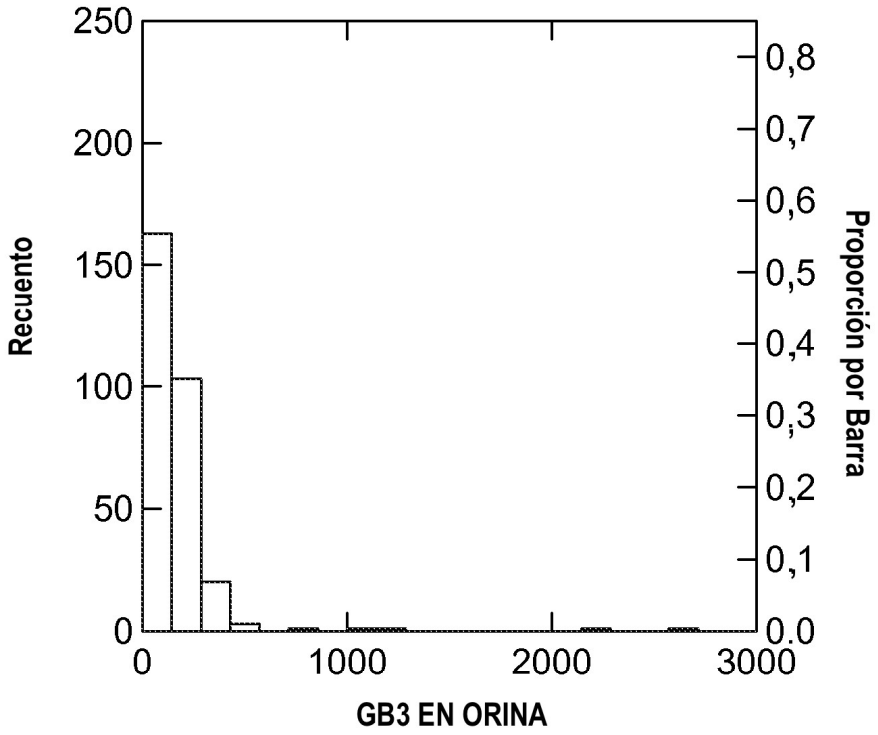
250
200
150
100
50
0
Recuento
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0.0
Proporción por Barra
0
1000
2000
3000
GB3 EN ORINA

FIG. 1A

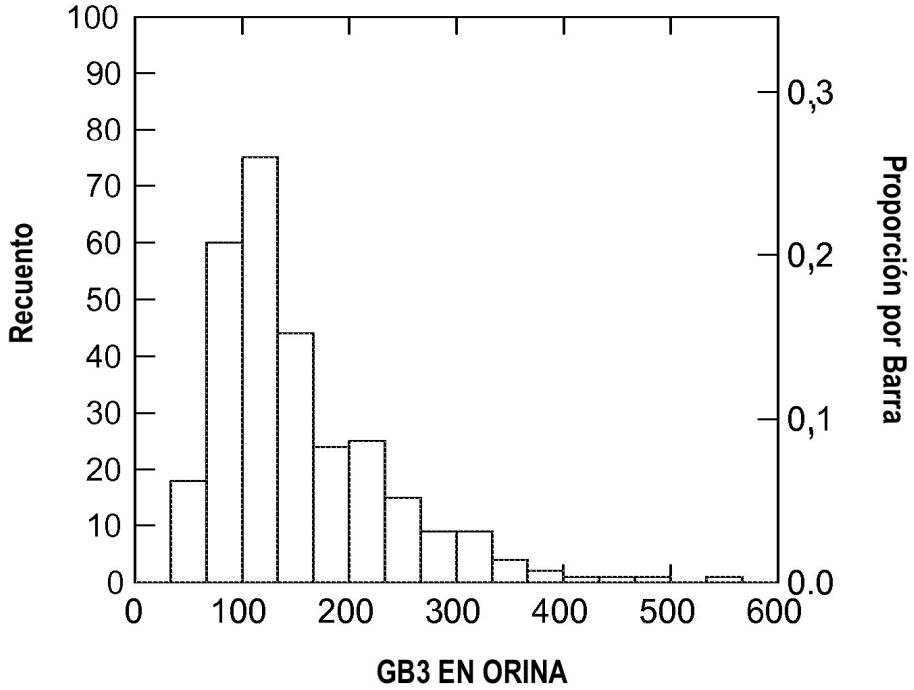
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
Recuento
0,3
0,2
0,1
0.0
Proporción por Barra
0
100
200
300
400
500
600
GB3 EN ORINA

FIG. 1B

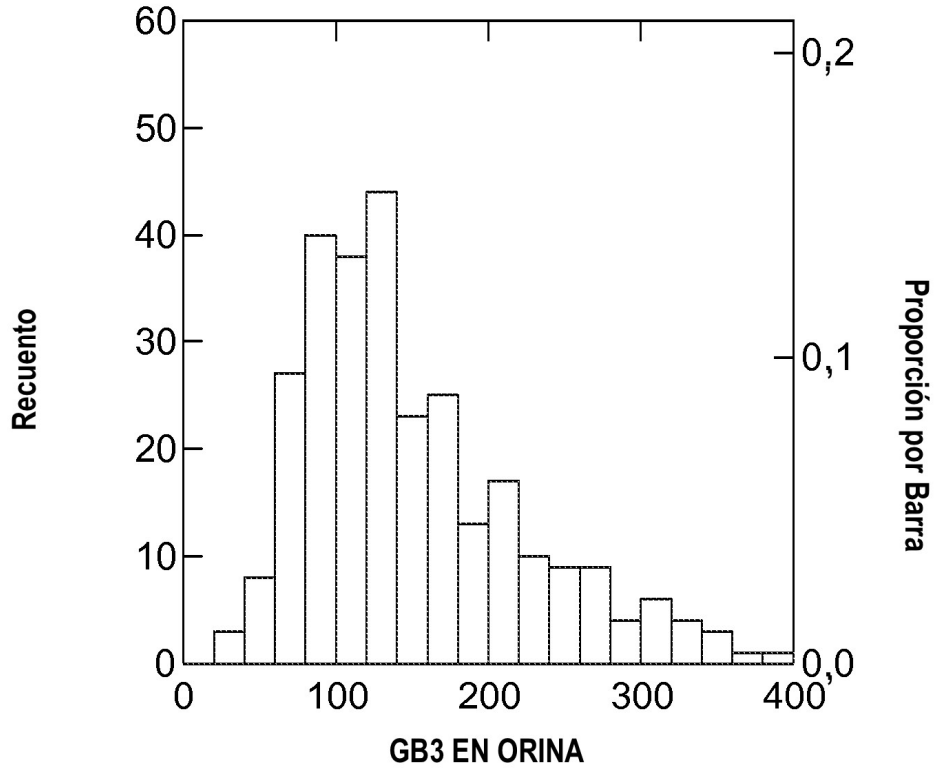
60
50
40
30
20
10
0
Recuento
0,2
0,1
0,0
Proporción por Barra
0
100
200
300
400
GB3 EN ORINA

FIG. 2

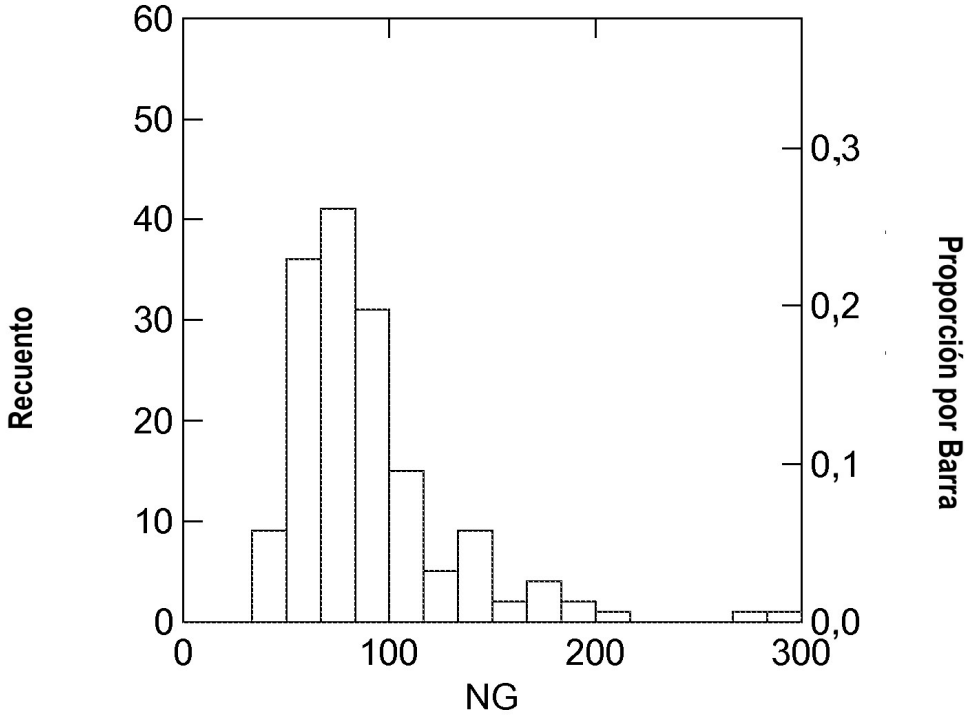
60
50
40
30
20
10
0
Recuento
0,3
0,2
0,1
0,0
Proporción por Barra
0
100
200
300
NG

FIG. 3

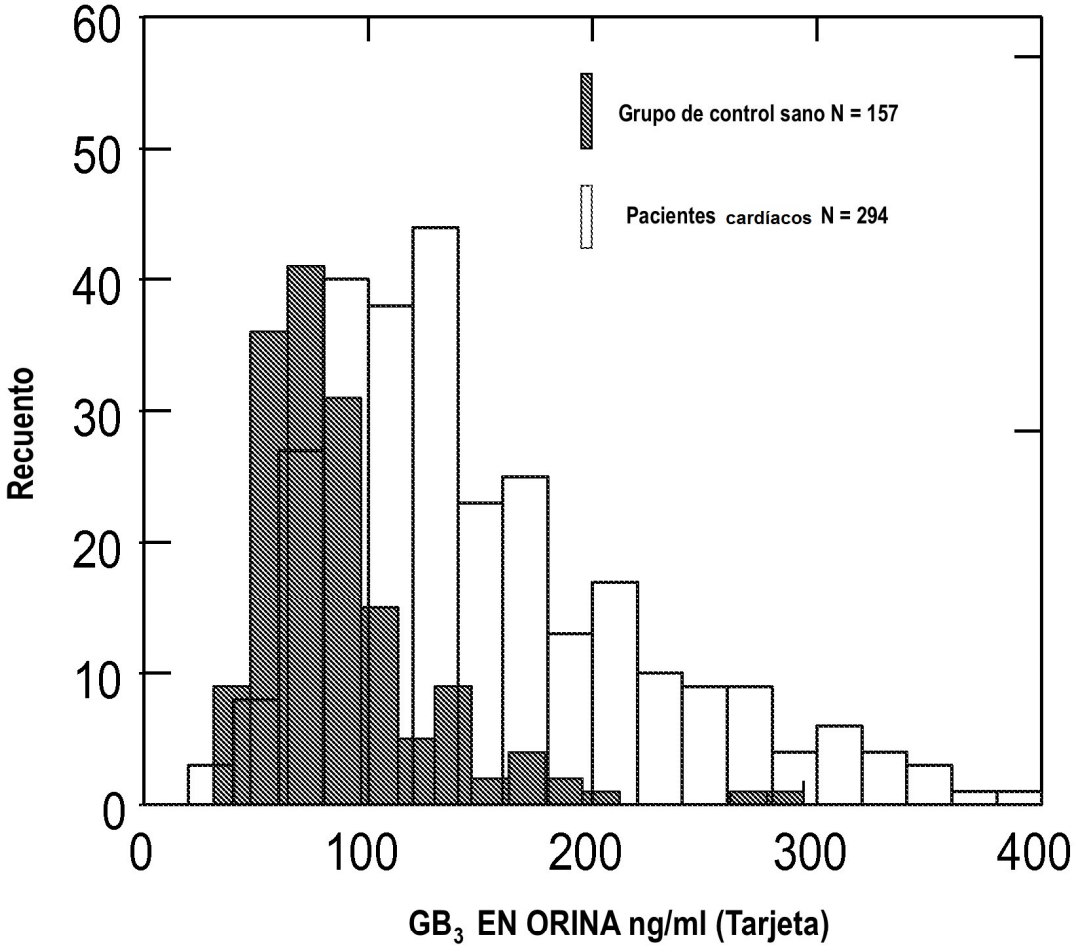
60
50
40
30
20
10
0
Recuento
Grupo de control sano N = 157
Pacientes cardíacos N = 294
0
100
200
300
400
GB3 EN ORINA ng/ml (Tarjeta)

FIG. 4