

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 783 879**

51 Int. Cl.:

A61K 31/365 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.01.2016 PCT/CN2016/072445**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.08.2017 WO17128163**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.01.2016 E 16887050 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.03.2020 EP 3320901**

54 Título: **Dimetilaminomiqueliolida para su uso en el tratamiento de fibrosis pulmonar**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.09.2020

73 Titular/es:

ACCENDATECH (50.0%)
Room 927, Building C, 5 Lanyuan St., Huayuan
Industry Development Area
Tianjin 300384, CN y
**TIANJIN INTERNATIONAL JOINT ACADEMY OF
BIOTECHNOLOGY & MEDICINE (50.0%)**

72 Inventor/es:

SUN, TAO;
CHEN, YUE;
YANG, CHENG;
ZHOU, HONGGANG;
LIU, HUIJUAN;
LIU, YANRONG;
WANG, JING;
ZHANG, CHENGYU;
ZHANG, QIANG;
ZHANG, XIANGMING;
QIN, YUAN y
JING, XUESHUANG

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 783 879 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

Dimetilaminomiqueliolida para su uso en el tratamiento de fibrosis pulmonar

5 La presente invención se refiere a dimetilaminomiqueliolida para uso en el tratamiento de fibrosis pulmonar.

Descripción de la técnica relacionada

10 La dimetilaminomiqueliolida es un derivado de sphaelactona. Está hecha de extracto natural de partenolida como materia prima. En este documento, se denomina ACT001 para abreviar. La partenolida es un compuesto de lactona sesquiterpénica purificada a partir de plantas herbáceas de tanaceto, que tiene características antiinflamatorias, antitumorales, agregación antiplaquetaria, etc. En la actualidad, los estudios sobre ACT001 se centran principalmente en el tratamiento de infecciones de la piel, migraña, reumatismo y tumores. Los estudios han demostrado que ACT001 y partenolida tienen características antiinflamatorias, antitumorales, agregación antiplaquetaria, inhibiendo la proliferación de células vasculares de músculo liso, suprimiendo la actividad de osteoclastos, etc. Proporcionan el efecto antiinflamatorio al inhibir la expresión del factor de necrosis tumoral (TNF- α), interleuquina-1 (IL-1), IL-12, epoxidasa-2 (COX-2), etc.; promueven la apoptosis de las células cancerosas mediante la inhibición de la activación de NF- κ B y fosforilación, y simultáneamente inhiben la generación de L-8 y factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) para desempeñar el papel antitumoral;

20 Hasta la fecha, no existe un informe definitivo sobre la aplicación de ACT001 en fibrosis pulmonar. Las citoquinas relacionadas con fibrosis pulmonar incluyen factor de crecimiento transformante- β (TGF- β), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factores de crecimiento similares a la insulina (IGF-1), interleuquina (IL), factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF), factor de necrosis tumoral α (TNF- α), metaloproteinasas de la matriz (MMP), etc. La fibrosis pulmonar se caracteriza por hiperplasia de fibroblastos en el tejido intersticial pulmonar resultando en deposición de ECM, por tanto, la inhibición de la proliferación de fibroblastos es una etapa importante en el desarrollo del fármaco antifibrótico.

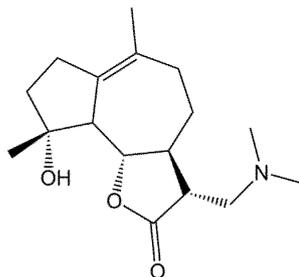
30 La dificultad respiratoria parece ser la manifestación clínica de la fibrosis pulmonar. En el estadio leve de la fibrosis pulmonar, la dificultad respiratoria generalmente ocurre durante ejercicio extenuante. En el estadio progresivo de la fibrosis pulmonar, la dificultad respiratoria ocurre incluso durante el descanso. Puede aparecer disnea progresiva en pacientes con fibrosis pulmonar grave. La fibrosis pulmonar puede tener serias consecuencias causando cambios estructurales y pérdida de función en los tejidos pulmonares normales. Cuando los alvéolos se reemplazan en gran medida por tejidos fibrosos sin función de intercambio gaseoso, la capacidad de intercambio gaseoso dentro del pulmón se debilita y el oxígeno no puede ingresar al torrente sanguíneo. El paciente sufrirá entonces dificultades respiratorias, hipoxia, acidosis, discapacidad, y los casos graves pueden conducir a la muerte. La fibrosis pulmonar se caracteriza por hiperplasia de fibroblastos en el tejido intersticial pulmonar y sobredeposición de ECM. Los fibrocitos no pueden reemplazar las células alveolares para la función de intercambio gaseoso y deposición de sangre pulmonar haciendo que el pulmón no metabolice sustancias peligrosas en el pulmón a tiempo, lo que provocará aún más daño a las células alveolares, formando un círculo vicioso; la sobredeposición de ECM causa la compresión de los capilares sanguíneos, haciendo que la sangre pulmonar no pueda circular fácilmente, lo que conduce a la deposición de sangre pulmonar en el pulmón. Por tanto, el nivel de suministro de sangre al pulmón se reduce conduciendo a problemas de dificultad respiratoria, etc.

45 Las enfermedades pulmonares causadas por la fibrosis pulmonar son enfermedades con alta incidencia. Dado que la fibrosis pulmonar está causada por lesión pulmonar persistente, una vez se ha desarrollado la fibrosis pulmonar, es difícil de curar y causará un gran daño a la salud del paciente. En la actualidad, no existen medicamentos eficaces para tratar fibrosis pulmonar.

50 Los fármacos antiinflamatorios y/o inmunosupresores, fármacos antifibróticos, fármacos anticoagulantes, trasplantes de pulmón, etc. son las principales medidas clínicas para tratamiento. Los fármacos de uso común incluyen glucocorticosteroides, nitroimidazol tiolpirimidina, ciclosporina, micofenolato de mofetilo, así como colchicina, penicilamina, etc. que pueden influir en la formación de colágeno. Los fármacos con glucocorticosteroides tienen un historial de uso para tratar fibrosis pulmonar idiopática durante más de 50 años. El resumen de varios estudios clínicos muestra que los glucocorticosteroides tienen una tasa de eficacia no superior a 16% para tratamiento de fibrosis pulmonar idiopática. Se ha usado nitroimidazol tiolpurina para tratar la fibrosis pulmonar idiopática durante más de 20 años, su eficacia sigue siendo controvertida. Otros fármacos también tienen diversos grados de controversia en su eficacia clínica. La enfermedad de fibrosis pulmonar requiere cuidados intensivos, con alta tasa de mortalidad, falta de medidas de tratamiento clínico y, por tanto, es una demanda importante desarrollar un nuevo fármaco para tratar fibrosis pulmonar basándose en un amplio conocimiento de su patogénesis.

Sumario de la invención

65 El fin de la presente invención es proporcionar un producto para uso en un método de tratamiento de fibrosis pulmonar. La presente invención proporciona dimetilaminomiqueliolida para uso en un método de tratamiento de fibrosis pulmonar, en donde la dimetilaminomiqueliolida tiene la fórmula estructural molecular:



5 La presente invención proporciona además una composición farmacéutica para uso en un método de tratamiento de fibrosis pulmonar que comprende dimetilaminomiqueliolida, sales farmacéuticamente aceptables, ésteres, hidratos, o sus combinaciones, y excipientes de dimetilaminomiqueliolida.

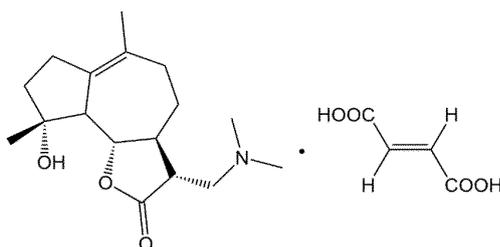
10 Como se desvela en este documento, se revierte la fibrosis pulmonar y se alivia el grado de fibrosis pulmonar, se inhibe la sobredeposición de matriz extracelular pulmonar, y se mejora el suministro de sangre pulmonar, mediante la dimetilaminomiqueliolida.

En una realización, el método para tratar fibrosis pulmonar comprende los siguientes modos de administración: oral, inyección, implantación, uso externo, pulverización, inhalación, o su combinación.

15 En una realización preferente, la forma de dosificación se selecciona de comprimido, cápsula, píldora, supositorio, aerosol, líquido oral, grano, polvo, inyección, jarabe, vino medicinal, tintura, gota, película, o sus combinaciones.

20 La ventaja del producto farmacéutico para tratar fibrosis pulmonar proporcionada por la presente invención es: dimetilaminomiqueliolida (ACT001) puede revertir e inhibir el nivel de fibrosis pulmonar del cuerpo, inhibir la sobredeposición de ECM pulmonar, mejorar el suministro de sangre pulmonar, y aumentar la cantidad de suministro sanguíneo al pulmón de modo que alivia la dificultad respiratoria, mostrando un prometedor efecto terapéutico para la fibrosis pulmonar. También, el producto farmacéutico no solo es fácilmente aceptable por los pacientes, sino que tiene pocos efectos secundarios, bajo precio, origen amplio, fácil acceso, e incluso ayuda a comprender las respuestas de productos farmacéuticos del paciente. Además, ACT001 cambiará la estructura de mercado existente del producto farmacéutico para tratar la fibrosis pulmonar convirtiéndose en un medicamento clínico que pueda tomarse a largo plazo, eficaz para inhibir fibrosis pulmonar y mejorar la función pulmonar.

30 ACT001 utilizado según la presente invención es fumarato de ACT001 que se presenta en polvo blanco, proporcionado por ACCENDATECH, n.º de lote 20131112. La fórmula química estructural del fumarato de ACT001 es:



Breve descripción de los dibujos

35 la Figura 1 muestra la imagen de sección de tejido pulmonar de un ratón normal;
 la Figura 2 muestra la imagen de sección de tejido pulmonar de ratones en la tercera semana del establecimiento del modelo de fibrosis pulmonar;
 la Figura 3A muestra la morfología de tejido pulmonar de ratones bajo microscopio estereoscópico en la segunda semana después de la administración de ACT001;
 40 la Figura 3B muestra la imagen de sección de tejido pulmonar de ratones en la segunda semana después de la administración de ACT001;
 la Figura 4A muestra la imagen de morfología del tejido pulmonar de ratones bajo microscopio estereoscópico en la tercera semana después de la administración de ACT001; y
 45 la Figura 4B muestra la imagen de sección de tejido pulmonar de ratones en la tercera semana después de la administración de ACT001.

Descripción detallada de la invención

Lo siguiente describirá clara y completamente las soluciones técnicas en las realizaciones según la presente invención en combinación con los dibujos en las realizaciones de la presente invención.

5 Los materiales experimentales usados en la presente invención y sus fuentes incluyen:

(1) Ratones

10 Ratones Kunming (macho): proporcionados por Laboratory Animal Center of Academy of Military Medical Sciences y Beijing Vital River Laboratory Animal Technology Co., Ltd. Después de la llegada de los animales, los animales fueron recibidos por una persona designada en la Sala 2 de alimentación de ratones, donde hay un ambiente protegido por un pasillo doble, y se rellenó un "Formulario de registro de recepción de animales experimentales" (BG-017-V00). Las condiciones generales de los animales se observaron tras recibirlos, y los animales se seleccionaron aleatoriamente para pesarlos para asegurar que los animales experimentales coincidan con los estándares de introducción. Número de licencia para uso de animales experimentales: SYXK (Tianjin) 2012-0003.

(2) Muestras de ensayo

20 Fumarato de ACT001: polvo blanco adquirido en ACCENDATECH, n.º de lote: 20131112.
Hidrato de metilviológeno: cristal blanco adquirido en J&K Scientific. Fabricante: J&K Scientific. Marca: J&K. Pureza: 98 %. Número de producto: 6045559, MDL: MFCD00150001, N.º CAS: 1910-42-5.
Almacenamiento de las muestras de ensayo: 4 °C

(3) El método de preparación de los fármacos y reactivos usados consiste en:

25 a) Preparación de solución de ACT001: se pesó 1 g de polvo de ACT001 y se disolvió en 100 ml de solución salina normal al 0,9 % para preparar una solución de 10 mg/ml. Cuando estaba completamente disuelto, se esterilizó por filtración con un filtro de 0,22 µm para uso, y se preparó recientemente cada vez antes de su uso. La preparación y uso de la solución deben realizarse en una vitrina de bioseguridad estéril.

30 b) Preparación de la solución de hidrato de etilviológeno: se pesaron 2 g de hidrato de etilviológeno y se disolvieron en 100 ml de solución salina normal al 0,9% para preparar una solución de 20 mg/ml. Cuando estaba completamente disuelto, se esterilizó por filtración con un filtro de 0,22 µm para uso, y se preparó recientemente cada vez antes de cada uso. La preparación y uso de la solución deben realizarse en una vitrina de bioseguridad estéril.

35 c) Preparación de líquido estacionario de formalina al 10 %: se mezclaron uniformemente 100 ml de formalina y 900 ml de agua purificada.

Realización 1 - Establecimiento del modelo de fibrosis pulmonar de ratón y ensayo de farmacodinámica de ACT001

40 Método y procedimiento experimental:

1. Establecimiento del modelo de fibrosis pulmonar de ratón y tratamiento de administración de fármaco

1.1. Establecimiento del modelo de fibrosis pulmonar de ratón

45 Dividir 36 ratones en tres grupos aleatoriamente: grupo normal, grupo de control (grupo del modelo de fibrosis pulmonar), grupo de ACT001 (administrando ACT001 después del modelado), y 12 animales por grupo. Realizar una administración intragástrica única de 0,15 ml de solución salina normal al 0,9% a cada animal del grupo normal; y realizar una administración intragástrica única de 0,15 ml de la solución acuosa de hidrato de etilviológeno a cada animal en el grupo de control y el grupo de ACT001.

1.2 Tratamiento de administración de fármaco de ratón con fibrosis pulmonar

55 3 semanas después del modelado, se administró tratamiento farmacológico a los ratones. Se realizó una administración intragástrica de 0,1 ml de solución salina normal al 0,9% a cada animal en los grupos normales y de control, y realizó una administración intragástrica de 0,1 ml de solución acuosa de ACT001 a cada animal en el grupo de ACT001. Una vez cada 2 días.

1.3 Ensayo patológico de fibrosis pulmonar de ratón

60 En la tercera semana después del modelado, la segunda semana después de la administración de fármaco, y la tercera semana después de la administración de fármaco, se tomaron cuatro ratones del grupo normal, grupo de control y grupo de ACT001, se sacrificaron rompiendo sus cuellos, se tomaron muestras de sus tejidos pulmonares, fijando después los tejidos con formalina al 10 % durante dos días, se lavó la solución de fijación en la superficie de los tejidos pulmonares con agua corriente, se deshidrataron los tejidos pulmonares con una máquina de deshidratación de tejidos patológicos, se incluyeron los tejidos fueron en parafina, se seleccionaron los tejidos

incluidos, se realizó tinción con HE y se cubrieron los portaobjetos antes de observar los cambios de los tejidos pulmonares al microscopio.

Resultados experimentales y evaluación

5

1) Resultados del establecimiento del modelo

La Figura 1 es la imagen de sección de tejido pulmonar de ratones normales y la Figura 2 es la imagen de sección de tejido pulmonar de ratones en la tercera semana del establecimiento del modelo de fibrosis pulmonar de ratón. Se puede observar en la Figura 2 que apareció fibrosis pulmonar significativa en el grupo de modelo establecido: deposición de ECM en los alvéolos pulmonares y mesénquima, extensa reparación con tejidos fibrosos, hiperplasia de fibras pulmonares, fibrosis del mesénquima pulmonar, deposición de colágeno y cambios estructurales de los alvéolos pulmonares.

15 2) Ensayo de farmacodinámica de ACT001

Los ratones se diseccionaron en la segunda semana después de la administración de ACT001 y se ensayó la eficacia de ACT001 en la fibrosis pulmonar. Se observaron los tejidos pulmonares de los ratones después de la disección y los resultados se mostraron en la Figura 3A, la Figura 3A muestra la imagen de efecto de la morfología de los tejidos pulmonares de los ratones al microscopio estereoscópico en la segunda semana después de la administración de ACT001. Se puede saber a partir de la Figura 3A que: en comparación con el grupo de control, los tejidos pulmonares en el grupo con la administración de ACT001 fueron relativamente más rojizos, mostrando una mejora significativa del suministro de sangre al tejido pulmonar, el tejido pulmonar era de color rojo brillante, mientras que la superficie del tejido pulmonar era aún más rojiza, que es equivalente al aspecto del tejido de los ratones del grupo normal; sin embargo, la superficie del tejido pulmonar de los ratones del grupo de modelado sin administración de fármaco era de color oscuro y la superficie de los tejidos pulmonares no era relativamente más rojiza. Se puede observar que el suministro de sangre a los tejidos pulmonares de los ratones administrados con dimetilaminomiqueliolida (ACT001) mejoró significativamente. Se puede observar que la administración de ACT001 mejora significativamente el suministro de sangre pulmonar y, por tanto, puede aliviar los síntomas corporales de dificultad respiratoria tales como disnea.

Quando se observaron los pulmones al microscopio estereoscópico, la superficie de los tejidos pulmonares del grupo de modelado sin administración de fármaco tiene un aspecto de color pálido, los vasos sanguíneos en el borde de los tejidos pulmonares eran finos y escasos, aparecieron cambios en los tejidos pulmonares, se observó fibroplasia en un área relativamente grande del parénquima pulmonar y las estructuras alveolares mostraron daños significativos. La sección de los tejidos pulmonares de los ratones se mostró en la Figura 3B, la Figura 3B muestra la imagen de efecto de la sección de tejido pulmonar de ratones en la segunda semana después de la administración de ACT001. Se puede saber a partir de la Figura 3B que: en comparación con los ratones sanos y normales, los ratones del grupo de control (es decir, sin administración de fármaco) mostraron fibrosis pulmonar significativa después de la inyección de hidrato de etilviolígeno; el grupo de ACT001 con administración de fármaco no mostró cambios aparentes en los tejidos pulmonares, no se observó fenómeno de fibroplasia en el parénquima pulmonar y no se dañaron las estructuras alveolares; fue una mejora significativa en el grado de fibrosis pulmonar, la deposición en los tejidos intersticiales pulmonares se redujo significativamente y las estructuras alveolares se restablecieron a la normalidad.

Las imágenes de los tejidos pulmonares y la sección de tejidos pulmonares en la tercera semana después de la administración de ACT001 se mostraron en las Figuras 4A y 4B, en donde la Figura 4A muestra la imagen de efecto de la morfología del tejido pulmonar de ratones al microscopio estereoscópico en la tercera semana después de la administración de ACT001 y la Figura 4B es una imagen de efecto de la sección de tejido de ratones en la tercera semana después de administración de ACT001. Se puede saber a partir de la Figura 4A y la Figura 4B que: en comparación con el grupo de control, el grupo de ACT001 con administración de fármaco mostró una mejora significativa en el grado de fibrosis pulmonar, el nivel de fibrosis pulmonar se redujo significativamente, que era equivalente al aspecto del grupo normal.

Además, después de 3 semanas de administración de fármaco, se observaron los pesos corporales de los ratones en el grupo normal, el grupo control y el grupo de ACT001 con administración de fármaco y se calcularon los coeficientes pulmonares de cada grupo. Los pesos corporales medios de los ratones en cada grupo fueron: el peso corporal medio de los ratones del grupo normal fue 49,2352 g, el peso corporal medio de los ratones del grupo de control fue 45,4575 g, y el peso corporal medio de los ratones del grupo de ACT001 con administración de fármaco fue 47,576 g. Los pesos pulmonares medios de los ratones en cada grupo fueron: el peso pulmonar medio de los ratones del grupo normal fue 0,4012 g, el peso pulmonar medio de los ratones del grupo de control fue 0,5983 g y el peso pulmonar medio de los ratones del grupo de ACT001 con administración de fármaco fue 0,4034 g. Según la fórmula: coeficiente pulmonar = masa pulmonar húmeda (mg)/peso corporal (g) * 100 %, después del cálculo, los coeficientes pulmonares de los ratones en cada grupo fueron: la media del coeficiente pulmonar de ratones del grupo normal fue 0,81 %, la media del coeficiente pulmonar de los ratones del grupo de control fue 1,32 %, y la media del coeficiente pulmonar de los ratones del grupo de ACT001 con administración de fármaco fue 0,85 %,

respectivamente. El coeficiente pulmonar del grupo de control fue significativamente mayor que el del grupo normal, y no hubo diferencias significativas en el coeficiente pulmonar del grupo de ACT001 con la administración de fármaco y el coeficiente pulmonar del grupo normal. Dado que el coeficiente pulmonar representa el grado de fibrosis pulmonar, en relación con el grupo de control, el coeficiente pulmonar medio del grupo de ACT001 con administración de fármaco de 0,85 %, que fue inferior en 0,47 %, fue próximo al coeficiente pulmonar medio del grupo normal, que fue 0,81 %. Por tanto, demostró que ACT001 fue capaz de revertir y mejorar el nivel de fibrosis pulmonar, mejorar la sobredeposición de ECM e inhibir la hiperplasia de células pulmonares con fibrosis.

5

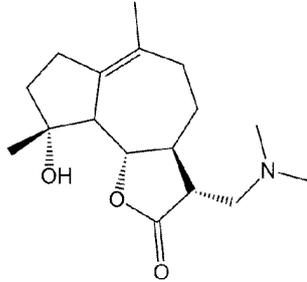
Las realizaciones anteriores demuestran que: ACT001 pudo revertir e inhibir el nivel de fibrosis pulmonar, inhibir la sobredeposición de ECM pulmonar, mejorar el suministro sanguíneo pulmonar aumentando el flujo sanguíneo pulmonar y aliviar la dificultad respiratoria, y con la función de tratamiento de fibrosis pulmonar.

10

REIVINDICACIONES

1. Dimetilaminomiqueliolida para uso en un método de tratamiento de fibrosis pulmonar, en donde la dimetilaminomiqueliolida tiene la fórmula estructural molecular:

5



2. Una composición farmacéutica que comprende dimetilaminomiqueliolida según la reivindicación 1, o sales, ésteres, hidratos o combinaciones de los mismos farmacéuticamente aceptables, y excipientes para uso en un método de tratamiento de fibrosis pulmonar.

10

3. Dimetilaminomiqueliolida para uso según la reivindicación 1 o una composición farmacéutica para uso según la reivindicación 2, **caracterizadas por que** el método para tratar fibrosis pulmonar comprende los siguientes modos de administración: oral, inyección, implantación, uso externo, pulverización, inhalación, o su combinación.

15

4. Dimetilaminomiqueliolida para uso o una composición farmacéutica para uso según la reivindicación 3, **caracterizadas por que** la forma de dosificación del producto farmacéutico para tratar fibrosis pulmonar se selecciona de comprimido, cápsula, píldora, supositorio, aerosol, líquido oral, grano, polvo, inyección, jarabe, vino medicinal, tintura, gota, película, o sus combinaciones.

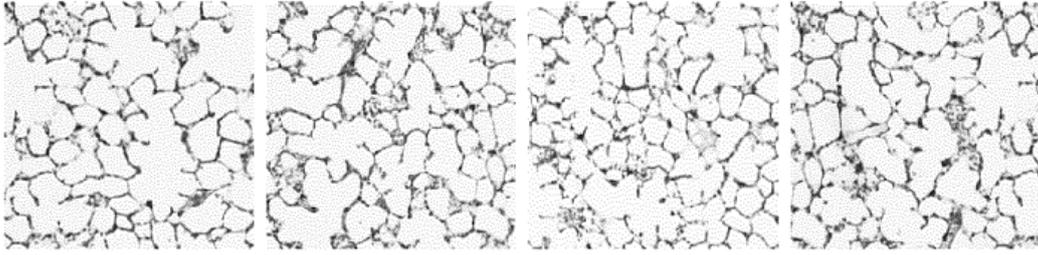


Figura 1

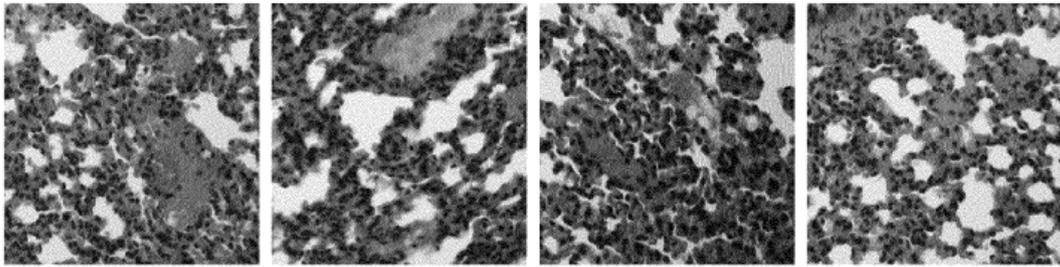


Figura 2

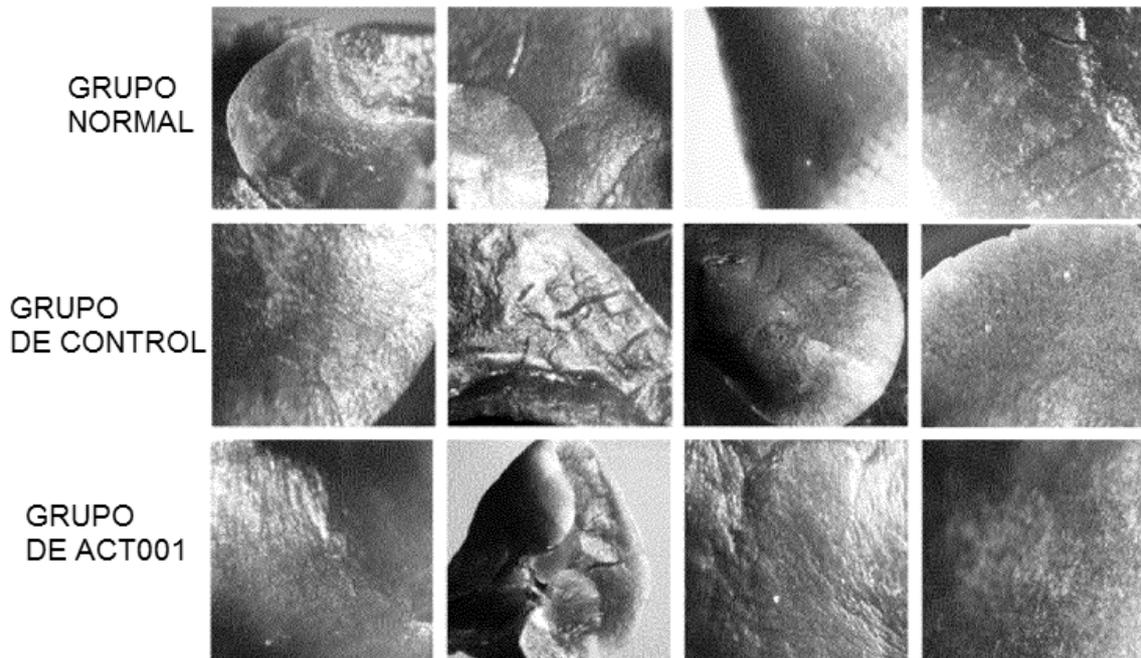


Figura 3A

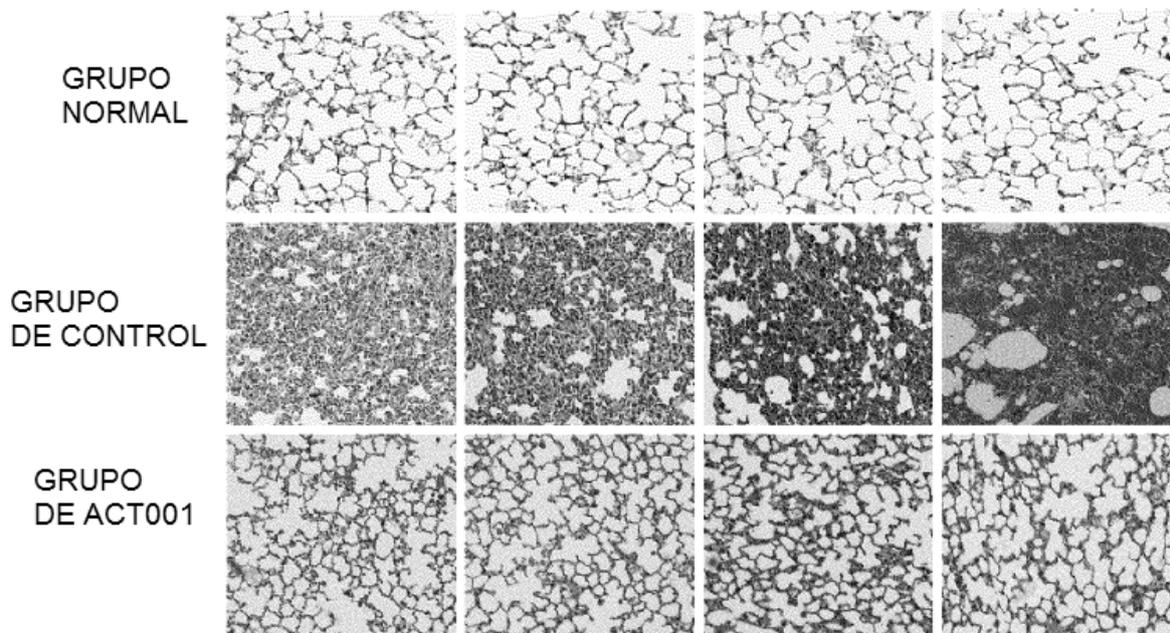


Figura 3B

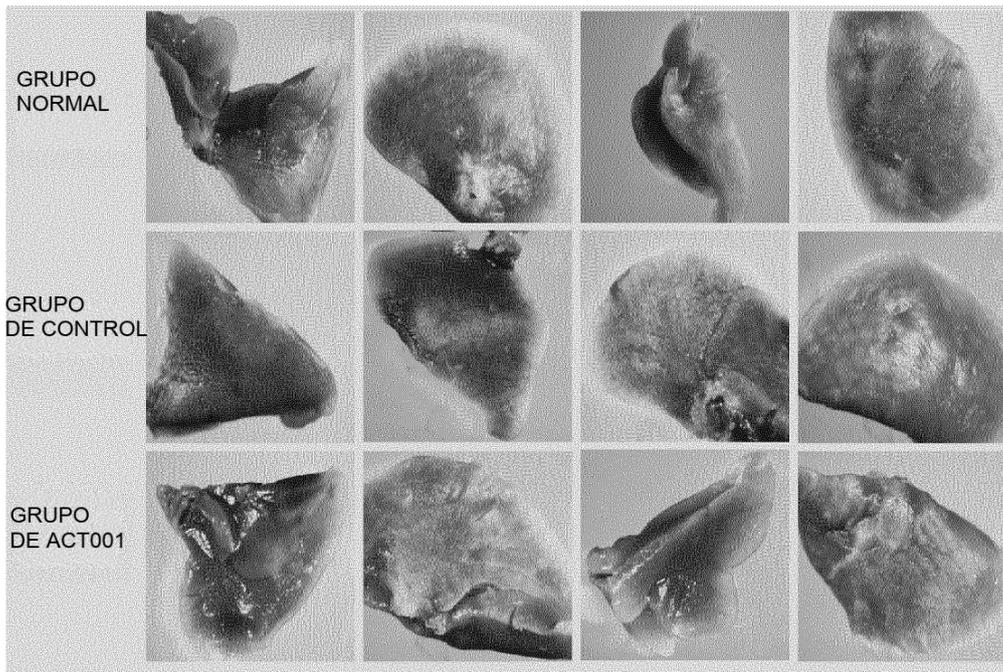


Figura 4A

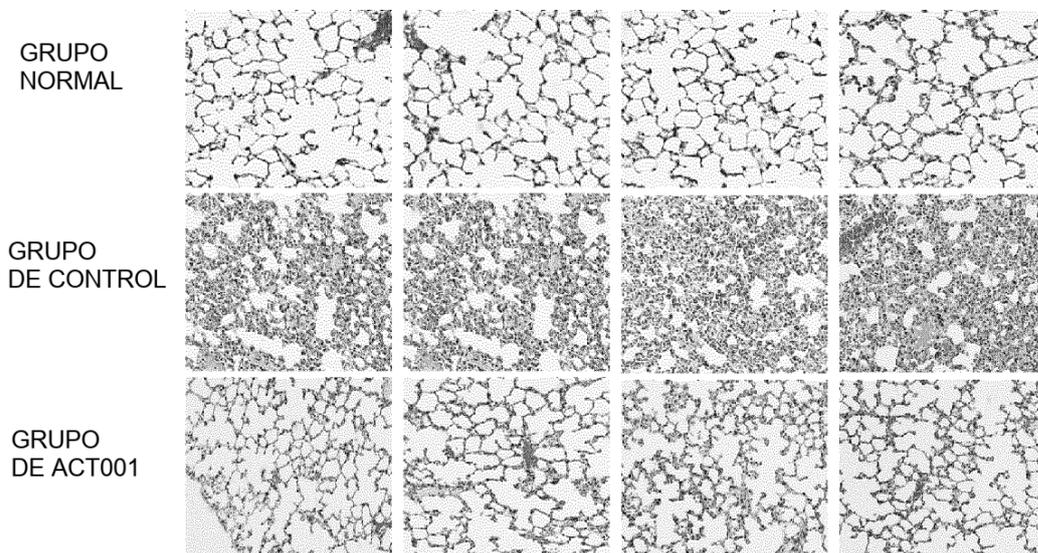


Figura 4B