(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **3 083 170**

(21) Número de solicitud: 202530317

(51) Int. CI.:

A61K 31/4184 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

(12) SOLICITUD DE PATENTE A1

(22) Fecha de presentación:

15.04.2025

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

28.10.2026

(71) Solicitantes:

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE (100,00%)
Avda. de la Universidad s/n
03202 Elche (Alicante) ES

(72) Inventor/es:

ÁNGEL GOMIS, Enrique;
CAPARRÓS CAYUELA, Esther y
FRANCÉS GUARINOS, Rubén

(74) Agente/Representante:

SAN MARTÍN ALARCIA, Esther

(54) Título: **Inhibidores de Suv39h2 como agentes antifibróticos en enfermedades hepáticas**

(57) Resumen:

Inhibidores de Suv39h2 como agentes antifibróticos en enfermedades hepáticas.

La presente invención describe el uso de inhibidores de Suv39h2, en especial OTS186935, por su efecto antifibrótico, en la prevención y/o tratamiento de la fibrosis hepática y de enfermedades hepáticas que cursan con fibrosis hepática, entre las que se incluyen la hepatitis B, la hepatitis C, hepatitis autoinmune, colangitis esclerosante primaria, colangitis biliar primaria, hemocromatosis, enfermedad de Wilson, deficiencia de alfa-1 antitripsina, enfermedad de hígado poliquístico, esteatohepatitis metabólica, esteatosis hepática metabólica y enfermedad hepática por disfunción metabólica y alcohol; con especial atención a la enfermedad hepática crónica y a la cirrosis hepática.

ES 3 083 170 A1

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de Suv39h2 como agentes antifibróticos en enfermedades hepáticas

CAMPO TÉCNICO

La presente invención se encuadra dentro del sector farmacéutico y va destinada al área del tratamiento de la fibrosis hepática. Concretamente, describe el uso de compuesto inhibidores de Suv39h2, como OTS186935, por su efecto antifibrótico, en la prevención y/o tratamiento de la fibrosis hepática y de enfermedades hepáticas que cursan con fibrosis hepática, en especial, la enfermedad hepática crónica y la cirrosis hepática.

ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

La cirrosis hepática es una enfermedad hepática progresiva que se caracteriza por presentar fibrosis causada por una lesión hepática crónica. Según la OMS, en total mueren anualmente aproximadamente unas 27.000 personas a causa de cirrosis hepática en los países desarrollados. En España, afecta a 4 de cada 10.000 personas, de las cuales, la gran mayoría desarrolla la enfermedad por el consumo excesivo de alcohol.

La cirrosis hepática es el estadio final de múltiples patologías hepáticas crónicas, en las que un daño hepático prolongado induce la transición progresiva del hígado sano a cirrótico [**1-4**]. La cirrosis hepática presenta muy diversos factores en su etiología y puede causar inflamación y lesiones hepáticas crónicas en las que se favorezca la formación de tejido fibroso. Destacan entre estos factores el abuso de alcohol y el desarrollo de otras patologías que cursan con fibrosis hepática como la hepatitis B y C, la colangitis biliar primaria (PBC) o la esteatohepatitis metabólica (MASH) [**1-4**].

El proceso cirrótico se inicia con la acumulación de tejido cicatricial fibroso en el hígado, principalmente compuesto por colágeno tipo I y actina de músculo liso, como consecuencia de la inflamación crónica motivada por las causas anteriormente citadas. La generación de una respuesta fibrótica en el hígado da lugar a la acumulación de componentes de la matriz extracelular (MEC), lo que provoca la formación de cicatrices fibrosas. Esto provoca la pérdida de hepatocitos y modifica la estructura normal del órgano provocando la pérdida de la unidad estructural del hígado (el lobulillo hepático) y la formación de nódulos fibrosos [**1, 2, 5**]. La desregulación del funcionamiento normal del hígado finalmente da lugar a insuficiencia hepática.

El desarrollo de la fibrosis es un proceso que no se ha caracterizado de forma completa. No obstante, se sabe que ocurre como consecuencia de la integración de señales implicadas en la regulación de la matriz extracelular y que, en última instancia, activan a una población heterogénea de células hepáticas profibrogénicas con un fenotipo similar a miofibroblastos [**6**]. La fibrosis hepática es un proceso reversible, a menos que sea progresivo y dé lugar a cirrosis.

Atendiendo al grado de progresión de la fibrosis, la cirrosis hepática se puede dividir en dos grandes fases con características clínicas y fisiológicas distintas.

En la fase compensada, el paciente puede experimentar alguno de los síntomas de la enfermedad o mantenerse asintomático. Esto es debido a que el hígado se encuentra funcionalmente activo pese a la acumulación de tejido fibroso.

En la fase descompensada el daño hepático es grave y la capacidad funcional del hígado se pierde de manera progresiva, lo que provoca un grave riesgo para la salud del paciente [**1,5**].

Durante la progresión de la cirrosis hepática, y especialmente en la fase descompensada, se producen una serie de signos característicos de la enfermedad que se agravan con el avance de esta; destacando, además de la acumulación de tejido fibroso y la inflamación, la necrosis de células parenquimales hepáticas (hepatocitos), la angiogénesis y los cambios a nivel vascular [**5-6**]. En condiciones normales, la sangre fluye de la circulación esplácnica hacia la hepática para la eliminación de bacterias y toxinas a través de la vena porta, y retorna a la circulación sistémica mediante la vena hepática. Debido a la fibrosis, la distorsión de la estructura hepática y el incremento de la resistencia del flujo sanguíneo (debida a la obstrucción mecánica y la disfunción endotelial) se produce una hipertensión portal [**1, 5, 6**]. Como respuesta adaptativa, se produce una vasodilatación esplácnica que en última instancia agrava la hipertensión portal y causa una circulación hiperdinámica especialmente marcada por varices esofágicas. Adicionalmente, la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona, resulta en la retención de sodio y agua a nivel renal y la consecuente insuficiencia renal y acumulación de fluidos en la cavidad peritoneal (ascitis) [**1, 3, 5**].

Los objetivos clave en el tratamiento de pacientes con cirrosis hepática incluyen tanto el control de la enfermedad hepática subyacente como la prevención y el tratamiento de las complicaciones relacionadas.

En pacientes con cirrosis compensada, la estrategia de tratamiento consiste en prevenir las complicaciones que pueden conducir a una cirrosis descompensada, mientras que los pacientes con cirrosis descompensada suelen ser derivados para un trasplante de hígado, y el objetivo principal del tratamiento previo al trasplante es eliminar la causa de la cirrosis (por ejemplo, consumo excesivo de alcohol, virus de la hepatitis) y prevenir la recurrencia de las complicaciones.

En la actualidad, las opciones terapéuticas para el tratamiento de la fibrosis hepática en el marco de la cirrosis hepática están orientadas principalmente a la prevención de los factores desencadenantes del daño prolongado (inflamación, necrosis de hepatocitos y estrés oxidativo). La reversión de la fibrosis es un escenario extremadamente lento y habitualmente imposible para pacientes en estadios cirróticos o de fibrosis avanzada [**6**].

En este contexto, el desarrollo de tratamientos que permitan una reversión efectiva de la fibrosis hepática, con especial atención a la asociada a la cirrosis hepática, se sitúa como una necesidad de vital importancia para la salud pública a nivel mundial. El uso de agentes antifibróticos se plantea como una posible estrategia para detener o revertir potencialmente la progresión de la cirrosis, incluso en pacientes con cirrosis descompensada, sin embargo, los estudios existentes en pacientes no permiten recomendar el uso de ningún fármaco antifibrogénico por el momento.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

La presente invención describe OTS186935, un inhibidor específico de Suv39h2, para su uso como agente terapéutico antifibrótico. Se propone el uso de este agente antifibrótico, OTS186935, en la prevención y/ o tratamiento de la fibrosis hepática y de enfermedades hepáticas que cursan con fibrosis hepática, entre las que se incluyen la hepatitis B, la hepatitis C, la colangitis biliar primaria, la hemocromatosis, la enfermedad de Wilson, la deficiencia de alfa-1 antitripsina, la enfermedad de hígado poliquístico, la esteatohepatitis metabólica, la esteatosis hepática metabólica y la enfermedad hepática por disfunción metabólica y alcohol, con especial atención a la enfermedad hepática crónica y a la cirrosis hepática.

Suv39h2 es una enzima con relevancia epigenética, que presenta una importante actividad metiltransferasa implicada en la modificación postraduccional de proteínas, siendo responsables de la metilación de la histona H3 en las lisinas 9.

La clase química denominada inhibidores Suv39h2 abarca una amplia gama de compuestos caracterizados por su capacidad para interactuar con la actividad enzimática de Suv39h2 y

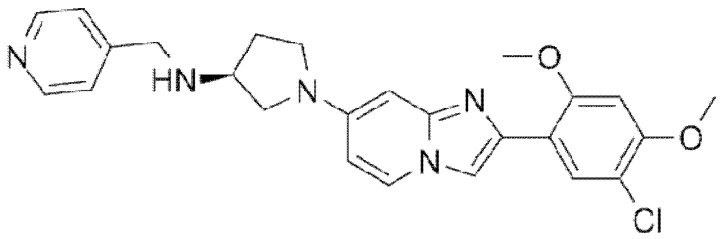
modularla. Suv39h2 desempeña un papel fundamental en la regulación epigenética de la expresión génica mediante la adición de grupos metilo a las proteínas histonas. Los inhibidores de esta clase están meticulosamente diseñados para influir en la función catalítica de Suv39h2, con la intención de afectar a su papel en la metilación de histonas y los consiguientes procesos de silenciamiento génico. Estos inhibidores emplean diversas estrategias para lograr la modulación, incluidas intervenciones que se dirigen al sitio activo de la enzima o interrumpen sus interacciones con sustratos y cofactores.

Los mecanismos de acción de los inhibidores de Suv39h2 abarcan un espectro amplio de acciones. Pueden funcionar uniéndose de forma competitiva al sitio de unión al sustrato de Suv39h2, impidiendo su capacidad para metilar histonas. Alternativamente, los inhibidores pueden dirigirse a regiones específicas del dominio catalítico de la enzima, perturbando así su maquinaria enzimática e impactando la adición de grupos metilo a las histonas. Estructuralmente, los inhibidores de Suv39h2 presentan una variedad de estructuras químicas, que va desde compuestos sintéticos diseñados específicamente para interactuar con Suv39h2, a moléculas de origen natural que presentan propiedades inhibidoras contra las histonas metiltransferasas.

OTS186935 es un inhibidor específico de Suv39h2, que no tiene efecto sobre otras histona-metiltransferasas implicadas en la trimetilación de la lisina 9 de la histona H3 (H3K9me3. La presente invención abarca cualquier otro inhibidor de Suv39h2, que, por definición, tiene el mismo efecto antifibrótico que se prueba en la presente memoria para el caso concreto de OTS186935 [**7**].

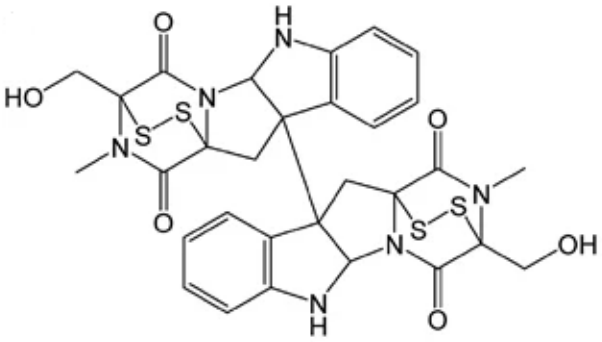
Entre los inhibidores Suv39h2 objeto de la presente invención se encuentran:

- OTS186935; con número CAS: 2093400-18-9 y de fórmula I:



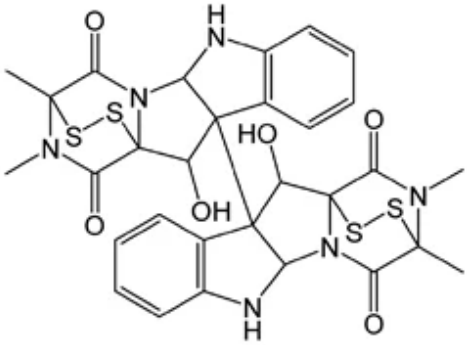
Fórmula (I)

- La chaetocina; un compuesto natural conocido por su potencial para inhibir la histona metiltransferasa Suv39h2, de fórmula II:



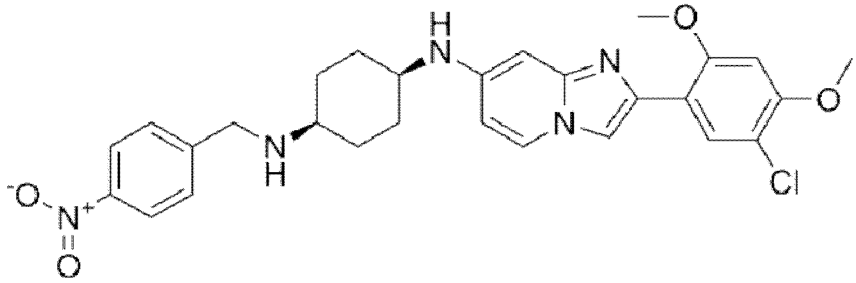
Fórmula (II)

- Verticillin A; con número CAS 889640-30-6, de fórmula III:



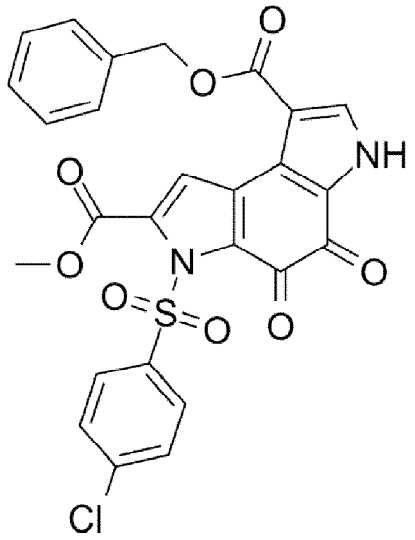
Fórmula (III)

- OTS193320; con número CAS: 2093401-33-1, de fórmula IV:



Fórmula (IV)

- F5446; con número CAS: 2304465-89-0, de fórmula V:



Fórmula (V)

En concreto, OTS186935 es un potente inhibidor de la proteína metiltransferasa Suv39h2. Hasta la fecha la capacidad inhibidora de Suv39h2 por parte de OTS186935 se ha asociado a una inhibición del crecimiento tumoral en modelos de xenoinjertos de ratón sin toxicidad detectable, gracias también a que OTS186935 regula la producción de γ-H2AX en células cancerosas.

Las moléculas OTS186935 no tienen descrita hasta la fecha la actividad biológica descrita en la presente memoria, es decir, como agente antifibrótico, y no se ha usado previamente con fines terapéuticos en humanos.

Tal y como se señala en los ejemplos de realización de la presente memoria, en pruebas llevadas a cabo en un modelo animal establecido de cirrosis, la administración de OTS186935 en animales cirróticos produce una mejora de los niveles de varios marcadores cuya elevación se asocia al daño hepático, como la fosfatasa alcalina, alanina y aspartato aminotransferasas, ácidos biliares, nitrógeno ureico y urea, hasta niveles muy cercanos a los normales, mientras que no provoca una alteración de los parámetros bioquímicos evaluados en los animales control, lo que pone de manifiesto la efectividad y la seguridad del tratamiento (**Figura 2**).

La administración de OTS186935 también redujo la expresión relativa de los marcadores profibrogénicos en animales cirróticos mientras que no se observó hepatotoxicidad ni empeoramiento en los animales control (**Figura 3A**). Las pruebas visuales sobre tejido hepático permitieron observar la deposición de colágeno y la formación de tabiques en el

tejido hepático procedente de animales cirróticos y la reducción en la acumulación de dicha proteína en los animales tratados con OTS186935 (**Figura 3B**).

Por tanto, un **primer aspecto** de la invención describe un compuesto inhibidor de Suv39h2, preferentemente OTS186935, chaetocina, Verticillin A, OTS193320 o F5446, y más preferentemente OTS186935, para su uso como agente antifibrótico, preferiblemente en la prevención y/o tratamiento de la fibrosis hepática.

Un **segundo aspecto** de la invención refiere a una composición que comprende un compuesto inhibidor de Suv39h2, preferentemente OTS186935, chaetocina, Verticillin A, OTS193320 o F5446, y más preferentemente OTS186935, para su uso como agente antifibrótico, preferiblemente en la prevención y/o tratamiento de la fibrosis hepática.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, la composición de la invención es una composición farmacéutica. Tal como se utiliza en la presente descripción, el término "composición farmacéutica" se refiere a cualquier sustancia utilizada para el diagnóstico, prevención, alivio, tratamiento o curación de una enfermedad en un ser humano o en animales. La composición farmacéutica puede incluir una composición única o composiciones separadas. La composición farmacéutica de la invención puede utilizarse sola o en combinación con otras composiciones farmacéuticas, preferiblemente, que comprenda otro compuesto útil en el tratamiento de la fibrosis hepática, en cuyo caso, también puede incluir una composición única o composiciones separadas. En una realización particular, la composición farmacéutica de la invención comprende además un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

El término "excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sustancia que ayuda a la absorción de la composición farmacéutica que comprende la composición de la invención, estabiliza dicha composición farmacéutica o ayuda en la fabricación de la misma en el sentido de darle consistencia, forma, sabor o cualquier otra característica funcional específica. Así, los excipientes podrían tener la función de mantener unidos los ingredientes, como por ejemplo almidones, azúcares o celulosas, una función edulcorante, una función colorante, una función protectora, como por ejemplo aislarla del aire y/o de la humedad, una función de relleno para un comprimido, cápsula o cualquier otra forma de formulación, como por ejemplo fosfato cálcico dibásico, una función desintegradora para facilitar la disolución de los componentes y su absorción, sin excluir otros tipos de excipientes no mencionados en este párrafo.

Un "soporte farmacéuticamente aceptable" (o "farmacológicamente aceptable") se refiere a cualquier sustancia, o combinación de sustancias, conocida en el sector farmacéutico, utilizada en la fabricación de formas farmacéuticas de administración e incluye, entre otros, sólidos, líquidos, disolventes o tensioactivos. El portador puede ser una sustancia inerte o tener una acción similar a cualquiera de los compuestos de la presente invención, teniendo la función de facilitar la incorporación del fármaco, así como de otros compuestos, permitiendo una mejor dosificación y administración o proporcionando consistencia y forma a la composición farmacéutica. Cuando la forma farmacéutica es líquida, el portador es el diluyente. El término "farmacológicamente aceptable" se refiere al hecho de que el compuesto al que se refiere está permitido y evaluado para que no cause daño a los organismos a los que se administra.

La composición farmacéutica de la invención puede administrarse a través de cualquier vía de administración, y como tal, dicha composición se formulará en la forma farmacéutica adecuada a la vía de administración elegida. Así, la composición farmacéutica de la invención puede administrarse por vía oral, nasal, ocular, tópica, intradérmica, intracraneal, intravenosa o intraperitoneal. Preferiblemente, se administra por vía oral.

La composición de la invención puede incluir una cantidad eficaz de un compuesto inhibidor de Suv39h2, preferentemente OTS186935, chaetocina, Verticillin A, OTS193320 o F5446, y más preferentemente OTS186935. El término "cantidad eficaz" utilizado en el presente documento se refiere a una cantidad suficiente para tratar de forma efectiva la fibrosis hepática. La cantidad eficaz puede seleccionarse adecuadamente por un experto en la materia en función del individuo seleccionado y pueden intervenir factores como la edad, las condiciones de salud, la duración de la administración, la vía de administración, la tasa de excreción y otros, incluido el uso de un fármaco en combinación con la composición farmacéutica o al mismo tiempo que ésta, y otros factores conocidos en el campo de la medicina. La terapia se considera "personalizada" cuando el compuesto que se administra al individuo para tratar una enfermedad está especialmente adaptado a las características tanto genotípicas como fenotípicas del individuo que va a ser tratado, evitando así la pérdida de tiempo con terapias no efectivas.

En una realización preferida de estos dos aspectos de la invención, se describe un compuesto inhibidor de Suv39h2, preferentemente OTS186935, chaetocina, Verticillin A, OTS193320 o F5446, y más preferentemente OTS186935, o la composición farmacéutica que lo comprende, para su uso como agente antifibrótico en la prevención y/o tratamiento de la fibrosis hepática. En una realización aún más preferida de estos aspectos de la invención,

su uso como agente antifibrótico en la prevención y/o tratamiento de la fibrosis hepática se enmarca en el tratamiento de enfermedades hepáticas que cursan con fibrosis hepática.

En una realización preferida de estos aspectos de la invención, las enfermedades hepáticas que cursan con fibrosis hepática se seleccionan de la lista que consiste en hepatitis B, hepatitis C, hepatitis autoinmune, colangitis esclerosante primaria, colangitis biliar primaria, hemocromatosis, enfermedad de Wilson, deficiencia de alfa-1 antitripsina, enfermedad de hígado poliquístico, esteatohepatitis metabólica (o “MASH” por sus siglas en inglés, antes llamada esteatohepatitis no alcohólica), esteatosis hepática metabólica (o “MASLD” por sus siglas en inglés, antes llamada enfermedad de hígado graso no alcohólico) y enfermedad hepática por disfunción metabólica y alcohol (o “MetALD” por sus siglas siglas en inglés) [**8**].

En otra realización preferida de estos aspectos de la invención, la enfermedad hepática es la enfermedad hepática crónica.

La fibrosis hepática es una enfermedad progresiva caracterizada por la acumulación de tejido cicatricial excesivo en el hígado.

La fibrosis hepática se clasifica en etapas. Los sistemas de estadificación utilizados proporcionan una forma estandarizada de clasificar la gravedad de la enfermedad y determinar el pronóstico de las personas con enfermedad hepática. Un sistema de estadificación ampliamente utilizado es el sistema de puntuación METAVIR, que va de F0 a F4.

- La etapa F0 indica ausencia de fibrosis, lo que significa que no hay cicatrices ni fibrosis significativas en el hígado. En este estadio, el tejido hepático está relativamente sano y el hígado funciona con normalidad.

- La etapa F1 representa una fibrosis mínima, en la que hay una cicatrización leve en el hígado, pero que aún no ha causado ningún deterioro significativo de la función hepática. La fibrosis en este estadio suele ser reversible con un tratamiento adecuado y cambios en el estilo de vida.

- La etapa F2, indica fibrosis moderada. En este punto, la cicatrización en el hígado se hace más pronunciada, lo que indica una progresión de la enfermedad hepática. Es crucial intervenir en esta fase para prevenir una mayor fibrosis y las complicaciones subsiguientes.

- La etapa F3 corresponde a una fibrosis avanzada. El hígado ha desarrollado una cicatrización extensa y la función hepática puede empezar a verse notablemente afectada.

Las personas en este estadio corren un mayor riesgo de desarrollar cirrosis si no se trata eficazmente la causa subyacente.

- La etapa F4 significa cirrosis, el estadio más grave de la fibrosis hepática. La cirrosis se caracteriza por la cicatrización generalizada e irreversible del tejido hepático, lo que provoca una disfunción hepática importante.

Dentro de las enfermedades hepáticas que cursan con fibrosis hepática encontramos, entre otras, la hepatitis B y C, la hepatitis autoinmune, la colangitis esclerosante primaria, la colangitis biliar primaria, la hemocromatosis, la enfermedad de Wilson, la deficiencia de alfa-1 antitripsina, la enfermedad de hígado poliquístico, la esteatohepatitis metabólica, la esteatosis hepática metabólica y la enfermedad hepática por disfunción metabólica y alcohol.

También se enmarca dentro de las enfermedades hepáticas que cursan con fibrosis hepática la enfermedad hepática crónica (EHC). La EHC es un conjunto de alteraciones hepáticas progresivas, producido por la inflamación crónica y fibrosis, que afectan a la estructura y las funciones del hígado. La EHC se caracteriza por la destrucción gradual e irreversible del hígado, que puede acabar en cirrosis. Las etapas de la enfermedad hepática crónica suelen incluir:

- Inflamación: El hígado se inflama y se hincha, lo que puede provocar daños con el tiempo.

- Fibrosis: El tejido cicatricial comienza a reemplazar el tejido hepático sano.

- Cirrosis: Un tejido cicatricial extenso reemplaza la mayor parte del tejido hepático sano, lo que afecta la capacidad del hígado para funcionar.

- Enfermedad hepática en etapa terminal (ESLD): El hígado ha sufrido daños graves y ya no puede realizar sus funciones vitales. El trasplante hepático se puede considerar en pacientes en estado avanzado.

Finalmente, dentro enfermedades hepáticas que cursan con fibrosis, la cirrosis hepática sería la de mayor incidencia. La cirrosis hepática representa una etapa tardía de fibrosis hepática caracterizada por la distorsión de la arquitectura del hígado y la formación de nódulos regenerativos, resultado del reemplazo del tejido hepático normal por nódulos y tejido fibroso. La formación de nódulos de regeneración es la característica que permite establecer el diagnóstico de cirrosis. La fibrosis forma una red tridimensional de fibras dentro

del hígado y en las áreas que quedan entre ellas se forman nódulos de células que se regeneran, los llamados nódulos de regeneración.

En el marco de la presente invención, OTS186935 es también denominado como “compuesto activo” o “ingrediente activo” de la invención. Tal como se utiliza en esta invención, el término "compuesto activo" significa cualquier componente que proporcione potencialmente un efecto farmacológico u otro tipo de efecto en el diagnóstico, cura, paliación, tratamiento o prevención de una enfermedad, o que afecte a la estructura o función del cuerpo humano o del cuerpo de otros animales. El término incluye aquellos componentes que promueven un cambio químico en la fabricación del medicamento y están presentes en él en una forma modificada y prevista para proporcionar una actividad o efecto específico.

Para su uso en terapia, el inhibidor de Suv39h2, preferiblemente OTS186935, chaetocina, Verticillin A, OTS193320 y F5446, y más preferiblemente OTS186935, puede estar en una forma sustancialmente pura o farmacéuticamente aceptable, es decir, con un nivel de pureza farmacéuticamente aceptable y excluyendo los aditivos farmacéuticos habituales, como diluyentes y vehículos, y sin incluir materiales considerados tóxicos a los niveles de dosificación habituales. Los niveles de pureza del principio activo son preferiblemente superiores al 50%, más preferiblemente superiores al 70%, y aún más preferiblemente superiores al 90%. En una realización preferida, los niveles son superiores al 95% en OTS186935.

Los términos "prevenir" y "prevención" tal como se utiliza aquí, se refieren a evitar total o parcialmente, o minimizar los efectos adversos o la gravedad de los mismos, de una enfermedad o afección, en este caso, la fibrosis hepática, antes de su aparición. La reducción de la afectación de la enfermedad en comparación con la progresión de la enfermedad que ocurre en ausencia del tratamiento variará en función de diversos factores y dependerá, entre otros, de la dosis administrada del ingrediente activo de la invención o de la composición farmacéutica de la invención, y de la vía de administración.

Los términos "tratar" y "tratamiento", tal como se utiliza aquí, se refieren a la capacidad del ingrediente activo de la invención o de la composición farmacéutica de la invención, para evitar, disminuir o eliminar por completo la fibrosis hepática en el paciente.

El término "paciente", “individuo” o "sujeto", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un mamífero e incluye, pero no se limita a, animales domésticos y de granja, primates y seres humanos, por ejemplo, seres humanos, primates no humanos, vacas,

caballos, cerdos, ovejas, cabras, perros, gatos o roedores como ratas y ratones. En una realización preferida, el sujeto es un ser humano.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado comúnmente entendido por un experto en la materia a la que pertenece esta invención. En la práctica de la presente invención pueden utilizarse métodos y materiales similares o equivalentes a los aquí descritos. A lo largo de la descripción y las reivindicaciones, la palabra "comprende" y sus variaciones no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Otros objetos, ventajas y características de la invención resultarán evidentes para los expertos en la materia tras el examen de la descripción o podrán conocerse mediante la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración y no pretenden ser limitativos de la presente invención.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. Manejo de animales y obtención de muestras. (**A**). Ratones C57BL/6 fueron sometidos a un protocolo de inducción de cirrosis por sondaje oral de CCl_4 durante 12 semanas. Durante las últimas 3 semanas, los animales fueron administrados intraperitonealmente con las drogas seleccionadas o el vehículo como control (n=5/grupo). (**B**) Finalizado el tratamiento, los animales fueron sacrificados para la obtención de muestras para análisis histológico, técnicas de biología molecular y análisis bioquímico en sangre.

Figura 2. Análisis bioquímico. Determinación cuantitativa en sangre completa de marcadores bioquímicos indicadores de salud hepática y renal (**A**) Albúmina, (**B**) Proteína total, (**C**) Colesterol total, (**D**) Fosfatasa alcalina, (**E**) Alanina aminotransferasa, (**F**) Aspartato aminotransferasa, (**G**) Gamma- glutamil transferasa, (**H**) Bilirrubina total, (**I**) ácidos biliares, (**J**) Nitrógeno ureico en sangre, (**K**) Globulina, (**L**) Urea, (**M**) Ratio Albúmina / Globulina. Variables categóricas representadas como frecuencias o porcentajes; variables continuas representadas como media ± desviación estándar. La normalidad de las variables continuas ha sido evaluada mediante el test de Kolmogorov-Smirnov ($p<0,05$). En caso de no confirmarse la distribución normal, las diferencias entre grupos fueron analizadas mediante el test no paramétrico de U de Mann-Whitney. Las comparaciones múltiples han sido analizadas según la corrección de Bonferroni. Todos los p-valores indicados se obtuvieron mediante una aproximación de dos colas, y los p-valores menores de 0,05 fueron considerados estadísticamente significativos. El software GraphPad Prism versión 9.0 (San Diego, CA) fue utilizado para los análisis estadísticos y la representación gráfica de los resultados. * ($p\leq0,05$), ** ($p\leq0,01$), *** ($p\leq0,001$), **** ($p\leq0,0001$).

Figura 3. Evaluación del efecto antifibrótico de OTS186935. (**A**) Expresión de marcadores profibrogénicos Acta2, Timp1, Col1a1 en hígado evaluados mediante qPCR. (**B**) Área de colágeno hepático evaluada por tinción de rojo sirio del tejido hepático, junto con imagen representativa de cada condición. (**C**) Área de alfa-actina del músculo liso evaluada en el hígado por inmunohistoquímica, junto con imagen representativa de cada condición. Variables categóricas representadas como frecuencias o porcentajes; variables continuas representadas como media ± desviación estándar. La normalidad de las variables continuas ha sido evaluada mediante el test de Kolmogorov-Smirnov ($p<0,05$). En caso de no confirmarse la distribución normal, las diferencias entre grupos fueron analizadas mediante el test no paramétrico de U de Mann-Whitney. Las comparaciones múltiples han sido analizadas según la corrección de Bonferroni. Todos los p-valores indicados se obtuvieron mediante una aproximación de dos colas, y los p-valores menores de 0,05 fueron considerados estadísticamente significativos. El software GraphPad Prism versión 9.0 (San Diego, CA) fue utilizado para los análisis estadísticos y la representación gráfica de los resultados. * ($p\leq0,05$), ** ($p\leq0,01$), *** ($p\leq0,001$), **** ($p\leq0,0001$).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Generación de enfermedad hepática crónica y administración de OTS186935

Para llevar a cabo el protocolo de inducción de cirrosis, se solicitaron ratones macho C57Bl6/J de entre 6 y 8 semanas de edad (Harlan Laboratories, Barcelona, España). Los animales fueron divididos inicialmente en dos grupos: el primero de los cuáles fue sometido al protocolo de inducción de cirrosis durante 16 semanas, mientras que el segundo fue tratado como grupo control.

Los animales fueron agrupados en jaulas con capacidad para 6 ratones y sometidos a una semana de cuarentena con comida y agua ad libitum. Finalizada la cuarentena, los animales fueron trasladados al estabulario, alimentados con pienso estándar para roedores, mantenidos a 21± 2°C de temperatura, 60±10 % de humedad y sometidos a ciclos de luz/oscuridad de 12:12 horas.

El protocolo de inducción de cirrosis experimental comenzó con la sustitución del agua de los animales del grupo cirrótico por una solución de 0.25 mmol/l de fenobarbital (un potente estimulante de la actividad hepática) en agua corriente, la cual fue suministrada a los ratones durante todo el protocolo. Finalizada la cuarta semana de tratamiento con fenobarbital, los animales fueron sometidos a 9 semanas de tratamiento con un agente hepatotóxico (tetracloruro de carbono, CCl_4) diluido en aceite de oliva, el cuál fue

administrado en un régimen de dosis controladas por peso, 2 veces por semana y mediante sondaje intragástrico. La primera administración consistió en una dosis fija de 100 µl/kg de peso (2 µl/ratón) de CCl_4 diluido en aceite hasta un volumen total de 200 µl. Las siguientes dosis fueron calculadas en base a las variaciones de peso de cada ratón registradas 48 horas tras el último sondaje realizado, hasta una dosis máxima de 100 µl. Los ratones control fueron administrados con 200 µl de aceite de oliva en un régimen idéntico a los cirróticos. Transcurridas 9 semanas de administración intragástrica de CCl_4, los animales de ambos grupos (control y cirróticos) fueron subdivididos en 2 nuevos grupos para su tratamiento con la droga a testar, OTS186935, o con el vehículo de la misma.

Los animales fueron administrados intraperitonealmente mediante inyección en los cuadrantes inferiores del abdomen con 20 mg/kg de OTS186935 vehiculizado en dimetilsulfóxido (DMSO) + PBS hasta un volumen final de 200 µl. Para evaluar el efecto de la manipulación e inyección del vehículo, ratones pertenecientes a los grupos control y cirrótico fueron inyectados paralelamente con el vehículo (DMSO+PBS). Un esquema del protocolo de cirrosis experimental y el régimen de administración de la droga (2 inyecciones por semana) puede observarse en la **Figura 1A.**

Transcurridas las 12 semanas de administración de CCl_4, los animales fueron sacrificados y empleados para la recogida de muestras de sangre para análisis bioquímico y tejido hepático para análisis histológico y de biología molecular (**Figura 1B**), con 5 animales por grupo experimental (N=5/grupo, N total = 20).

Durante todo el protocolo, los animales recibieron los cuidados indicados en la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio.

Análisis de marcadores bioquímicos

Los niveles de albumina, proteína y colesterol totales, fosfatasa alcalina, alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa, gamma-glutamil transferasa, bilirrubina total, ácidos biliares, nitrógeno ureico en sangre, globulinas, urea y ratio albúmina/globulina fueron determinados en 200 µl de sangre completa de los animales (6 grupos, N=5/grupo. Grupo CCl_4 + OTS186935 N=4) mediante un analizador bioquímico automático (Skyla Vb1, CVM practice, Navarra, España).

Los resultados, recogidos en la **Figura 2**, muestran que la administración de OTS186935 mediante el régimen y método descritos no provocan una alteración estadísticamente significativa de los parámetros evaluados en los animales control, poniendo de manifiesto la seguridad del tratamiento.

Por su parte, la administración de animales cirróticos con el inhibidor de Suv39h2 estudiado, de OTS186935, produce una mejora estadísticamente significativa de los niveles de varios marcadores cuya elevación se asocia al daño hepático (fosfatasa alcalina, alanina y aspartato aminotransferasas, ácidos biliares). La reducción en los valores de transferasas hepáticas (fosfatasa alcalina, alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa) en los animales cirróticos administrados intraperitonealmente con las drogas respecto a los tratados con el vehículo, indica una reducción en la severidad de la enfermedad hepática crónica con el tratamiento. En lo referente a la salud renal, los niveles de urea y nitrógeno ureico en sangre fueron menores en los animales tratados con OTS186935.

La normalización de los valores registrados para los parámetros mencionados en los animales cirróticos + OTS186935 (llegando en muchos casos a recuperarse niveles similares a los animales control + vehículo) evidencian el potencial de OTS186935 como estrategia para la mejora de la salud hepática en un modelo establecido de cirrosis experimental.

Análisis histológico y de biología molecular

Se extrajo el ARN total de muestras de hígado obtenidas de los ratones en el momento del sacrificio mediante un kit comercial (RNeasy Mini Kit, Qiagen). Con el objetivo de estudiar el efecto del tratamiento administrado en la cirrosis, se llevaron a cabo PCRs cuantitativas (qPCRs) en las que se evaluó la expresión relativa de genes clave en la progresión de la fibrosis. Los genes seleccionados fueron *Acta2* (actina de músculo liso), *Timp1* (inhibidor de metaloproteinasa tisular 1), y *Col1a1* (Colágeno tipo I alfa 1). Los valores de expresión registrados fueron normalizados respecto al gen *Actb* (Beta-Actina). La expresión relativa de los marcadores estudiados se calculó mediante el método de $2^{-\Delta\Delta Ct.}$

Timp1 regula la remodelación de la matriz extracelular mediada por metaloproteasas en el hígado. El inhibidor de metaloproteinasas de matriz 1 se expresa en respuesta al daño hepático como consecuencia de la interacción entre miofibroblastos hepáticos activados y macrófagos del hígado, mostrándose sobreexpresado en tejido hepático y suero durante la fibrogénesis hepática en pacientes de enfermedad hepática crónica y modelos animales de la enfermedad, observándose una correlación entre su expresión y el estadio de desarrollo de la fibrosis.

Por su parte, la actina de músculo liso y el colágeno son componentes de la matriz extracelular, cuya acumulación en el tejido y formación de tabiques son una de las principales características de la disfunción tisular del hígado fibrótico.

En línea con los resultados obtenidos anteriormente, la **Figura 3A** muestra una reducción estadísticamente significativa de la expresión relativa de los marcadores profibrogénicos estudiados en los hígados procedentes de animales cirróticos administrados con OTS186935 respecto a los cirróticos tratados el vehículo. Adicionalmente, no se observó hepatotoxicidad ni empeoramiento de los parámetros estudiados en los animales control administrados con la droga epigenética.

Con el objetivo de validar los resultados de expresión génica se llevó a cabo una tinción de rojo sirio (tinción específica para la visualización de la acumulación de fibras de colágeno I y III) utilizando un kit comercial (Picro Sirius Red Stain Kit, Abcam) en cortes de tejido fijados con formalina y embebidos en parafina de 5 µm de espesor. Este ensayo de histología permitió observar de deposición de colágeno y la formación de tabiques en el tejido hepático procedente de animales cirróticos, produciéndose una reducción en la acumulación de dicha proteína en los animales tratados con OTS186935.

Finalmente, experimentos de inmunohistoquímica fueron llevados a cabo en las citadas secciones de tejido incluido en parafina para evaluar la presencia de actina de músculo liso, uno de los componentes principales de la matriz extracelular. La actina es una proteína asociada a la activación de células hepáticas estelares, clave en el desarrollo de la fibrosis durante la enfermedad hepática crónica. En ambos casos se realizó una cuantificación del área teñida positiva utilizando un software libre de procesado y análisis de imagen (ImageJ). En línea con los resultados anteriores, la cuantificación del área positiva para α-actina de músculo liso en los animales cirróticos tratados mostró una disminución en comparación a los ratones cirróticos inyectados con el vehículo (**Figura 3C**).

Los resultados de dicha cuantificación, así como imágenes representativas de cada condición pueden observarse en la **Figura 3 B-C**.

Conjuntamente, los resultados demuestran mediante análisis bioquímico, expresión génica y proteica e histología no solo el uso seguro de la administración intraperitoneal de OTS186935 en ratón a las dosis propuestas, sino también su efecto como antifibrótico en un modelo de enfermedad hepática crónica por tetracloruro de carbono.

Referencias

1. Poordad, F. F. Presentation and complications associated with cirrhosis of the liver. *Curr. Med. Res. Opin.* 31, 925–937 (2015).

2. Aydin, M. M. & Akcali, K. C. Liver fibrosis. *Turkish J. Gastroenterol.* 29, 14–21 (2018). 3. Tsochatzis, E. A., Bosch, J. & Burroughs, A. K. Liver cirrhosis. *Lancet* 383, 1749–1761 (2014).

3. Zhou, W. C., Zhang, Q. B. & Qiao, L. Pathogenesis of liver cirrhosis. *World J. Gastroenterol.* 20, 7312–7324 (2014).

4. D'Amico, G. *et al.* Clinical states of cirrhosis and competing risks. *J. Hepatol.* 68, 563–576 (2018).

5. Toosi, A. E. rfan. K. Liver Fibrosis: Causes and Methods of Assessment, A Review. *Rom. J. Intern. Med.* 53, 304–314 (2015).

6. Zhang CY, Liu S, Yang M. Treatment of liver fibrosis: Past, current, and future. *World J Hepatol*. 15(6):755-774 (2023).

7. Feoli A, Viviano M, Cipriano A, Milite C, Castellano S, Sbardella G. Lysine methyltransferase inhibitors: where we are now. *RSC Chem Biol*. 2021;3(4):359-406. Published 2021 Dec 13. doi:10.1039/d1cb00196e

8. Somnay K, Wadgaonkar P, Sridhar N, Roshni P, Rao N, Wadgaonkar R. Liver Fibrosis Leading to Cirrhosis: Basic Mechanisms and Clinical Perspectives. *Biomedicines*. 2024; 12(10):2229. https://doi.org/10.3390/biomedicines12102229

REIVINDICACIONES

1. Compuesto inhibidor de Suv39h2 para su uso como agente antifibrótico.

2. Compuesto inhibidor de Suv39h2 para su uso de acuerdo con la reivindicación anterior que se selecciona de la lista que consiste en: OTS186935, chaetocina, Verticillin A, OTS193320 y F5446.

3. OTS186935 para su uso como agente antifibrótico.

4. Composición que comprende un compuesto inhibidor de Suv39h2 para su uso como agente antifibrótico

5. Composición que comprende un compuesto inhibidor de Suv39h2 para su uso como agente antifibrótico, que se selecciona de la lista que consiste en: OTS186935, chaetocina, Verticillin A, OTS193320 y F5446.

6. Composición que comprende OTS186935 para su uso como agente antifibrótico.

7. Composición para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6 caracterizada por que es una composición farmacéutica.

8. Compuesto inhibidor de Suv39h2 o composición farmacéutica que lo comprende para su uso como agente antifibrótico en la prevención y/o tratamiento de la fibrosis hepática.

9. OTS186935 o composición farmacéutica que lo comprende para su uso como agente antifibrótico en la prevención y/o tratamiento de la fibrosis hepática.

10. Compuesto inhibidor de Suv39h2 o composición farmacéutica que lo comprende para su uso como agente antifibrótico en el tratamiento enfermedades hepáticas que cursan con fibrosis hepática.

11. OTS186935 o composición farmacéutica que lo comprende para su uso como agente antifibrótico en el tratamiento enfermedades hepáticas que cursan con fibrosis hepática.

12. Compuesto inhibidor de Suv39h2 o composición farmacéutica que lo comprende para su uso como agente antifibrótico en el tratamiento enfermedades hepáticas que cursan con fibrosis hepática, donde la enfermedad hepática se selecciona de la lista que consiste en: hepatitis B, hepatitis C, hepatitis autoinmune, colangitis esclerosante primaria, colangitis

biliar primaria, hemocromatosis, enfermedad de Wilson, deficiencia de alfa-1 antitripsina, enfermedad de hígado poliquístico, esteatohepatitis metabólica, esteatosis hepática metabólica y enfermedad hepática por disfunción metabólica y alcohol.

13. OTS186935 o composición farmacéutica que lo comprende para su uso como agente antifibrótico en el tratamiento enfermedades hepáticas que cursan con fibrosis hepática, donde la enfermedad hepática se selecciona de la lista que consiste en: hepatitis B, hepatitis C, hepatitis autoinmune, colangitis esclerosante primaria, colangitis biliar primaria, hemocromatosis, enfermedad de Wilson, deficiencia de alfa-1 antitripsina, enfermedad de hígado poliquístico, esteatohepatitis metabólica, esteatosis hepática metabólica y enfermedad hepática por disfunción metabólica y alcohol.

14. Compuesto inhibidor de Suv39h2 o composición farmacéutica que lo comprende para su uso como agente antifibrótico en la prevención y/o el tratamiento enfermedades hepáticas que cursan con fibrosis hepática, donde la enfermedad hepática es la enfermedad hepática crónica.

15. OTS186935 o composición farmacéutica que lo comprende para su uso como agente antifibrótico en la prevención y/o el tratamiento enfermedades hepáticas que cursan con fibrosis hepática, donde la enfermedad hepática es la enfermedad hepática crónica.

16. Compuesto inhibidor de Suv39h2 para su uso como agente antifibrótico en la prevención y/o el tratamiento enfermedades hepáticas que cursan con fibrosis hepática, donde la enfermedad hepática es la cirrosis hepática.

17. OTS186935 para su uso como agente antifibrótico en la prevención y/o el tratamiento enfermedades hepáticas que cursan con fibrosis hepática, donde la enfermedad hepática es la cirrosis hepática.

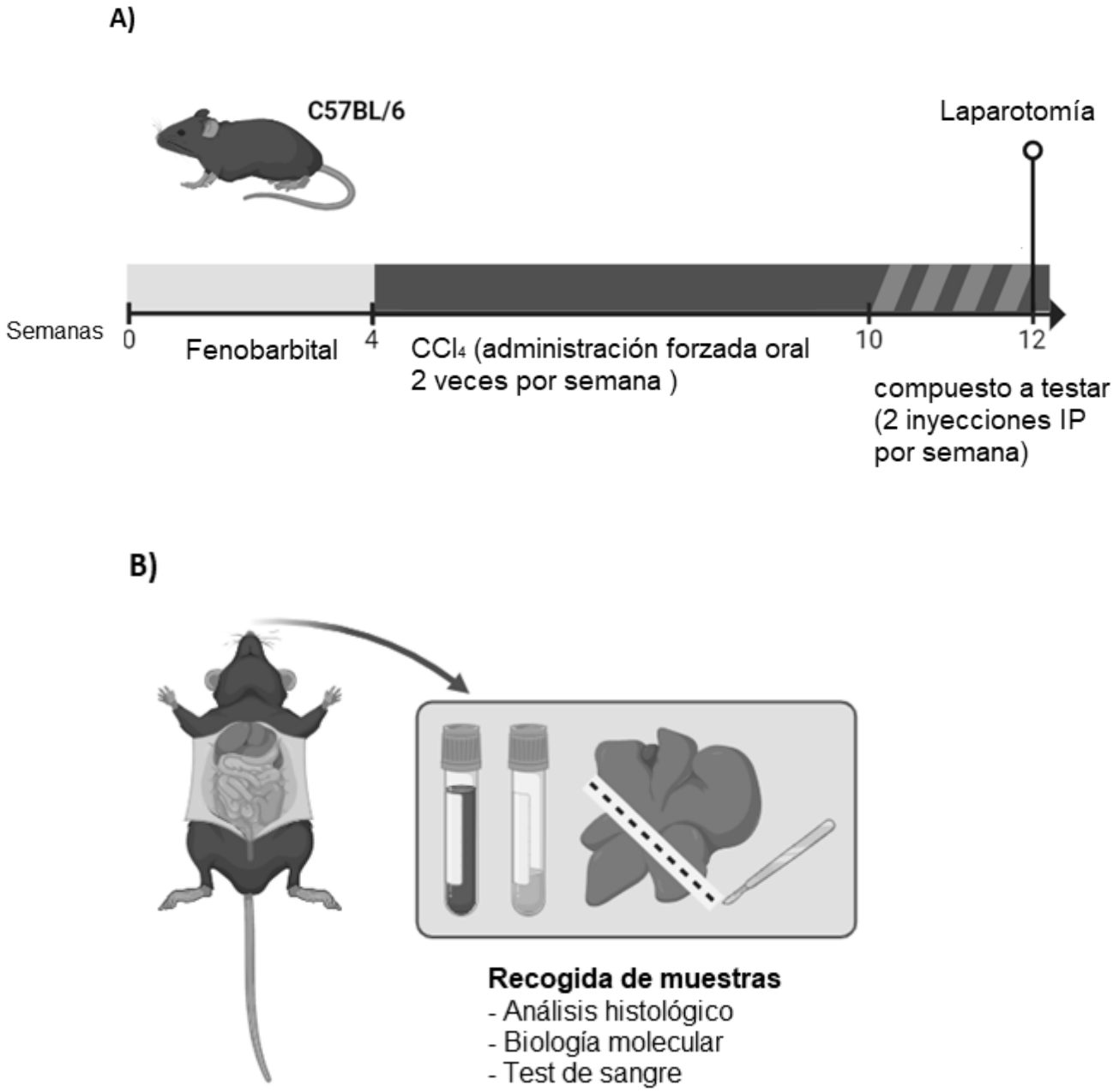

A)
C57BL/6
Laparotomía
Semanas
0
Fenobarbital
4
CCl4 (administración forzada oral
2 veces por semana)
10
12
compuesto a testar
(2 inyecciones IP
por semana)
B)
Recogida de muestras
- Análisis histológico
- Biología molecular
- Test de sangre

FIG. 1

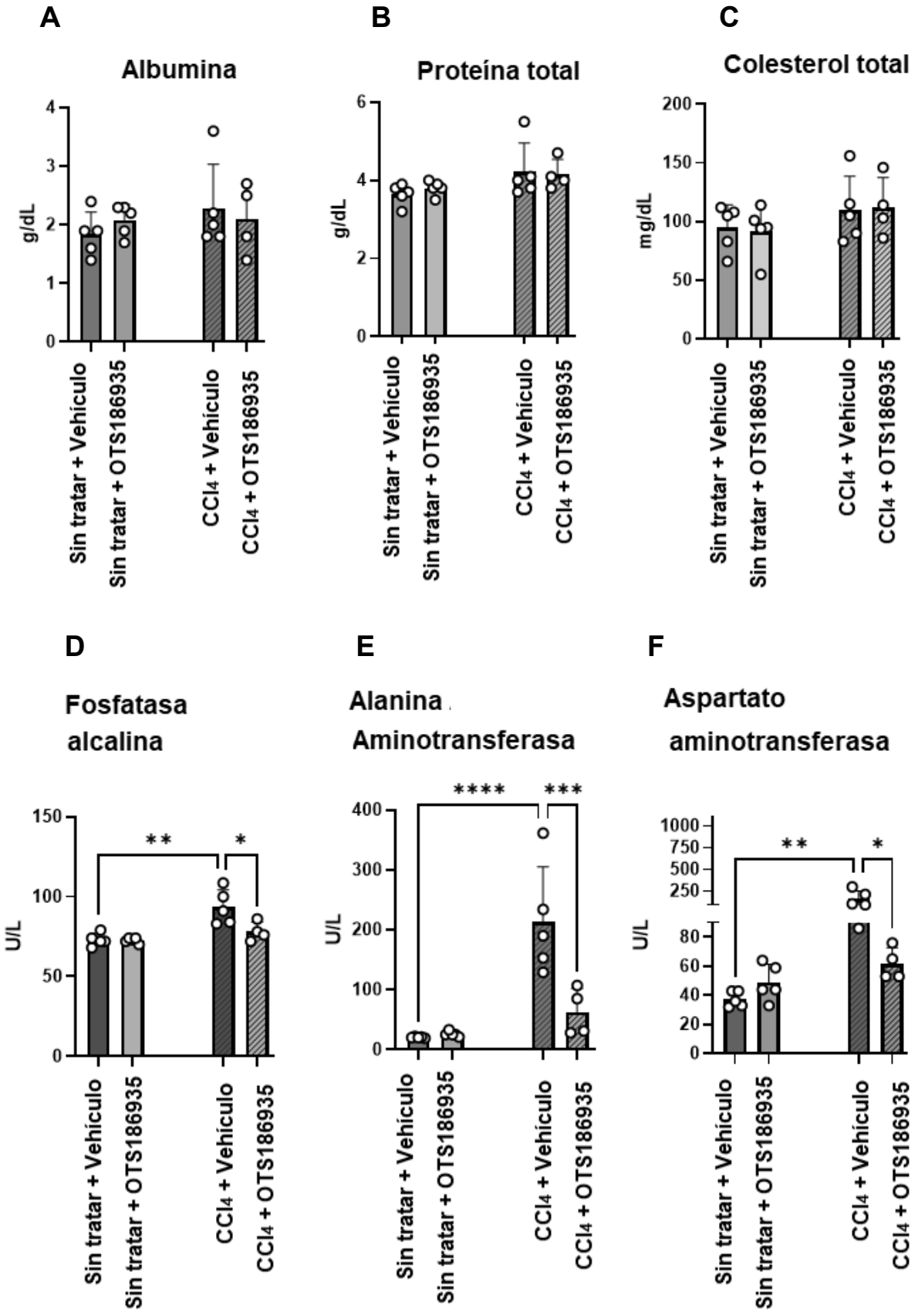

A
Albumina
g/dL
4
3
2
1
0
B
Proteína total
g/dL
6
4
2
0
C
Colesterol total
mg/dL
200
150
100
50
0
Sin tratar + Vehículo
Sin tratar + OTS186935
CCl4 + Vehículo
CCl4 + OTS186935
D
Fosfatasa alcalina
U/L
150
100
50
0
**
*
E
Alanina Aminotransferasa
U/L
400
300
200
100
0
****
***
F
Aspartato aminotransferasa
U/L
1000
750
500
250
80
60
40
20
0
**
*

FIG. 2

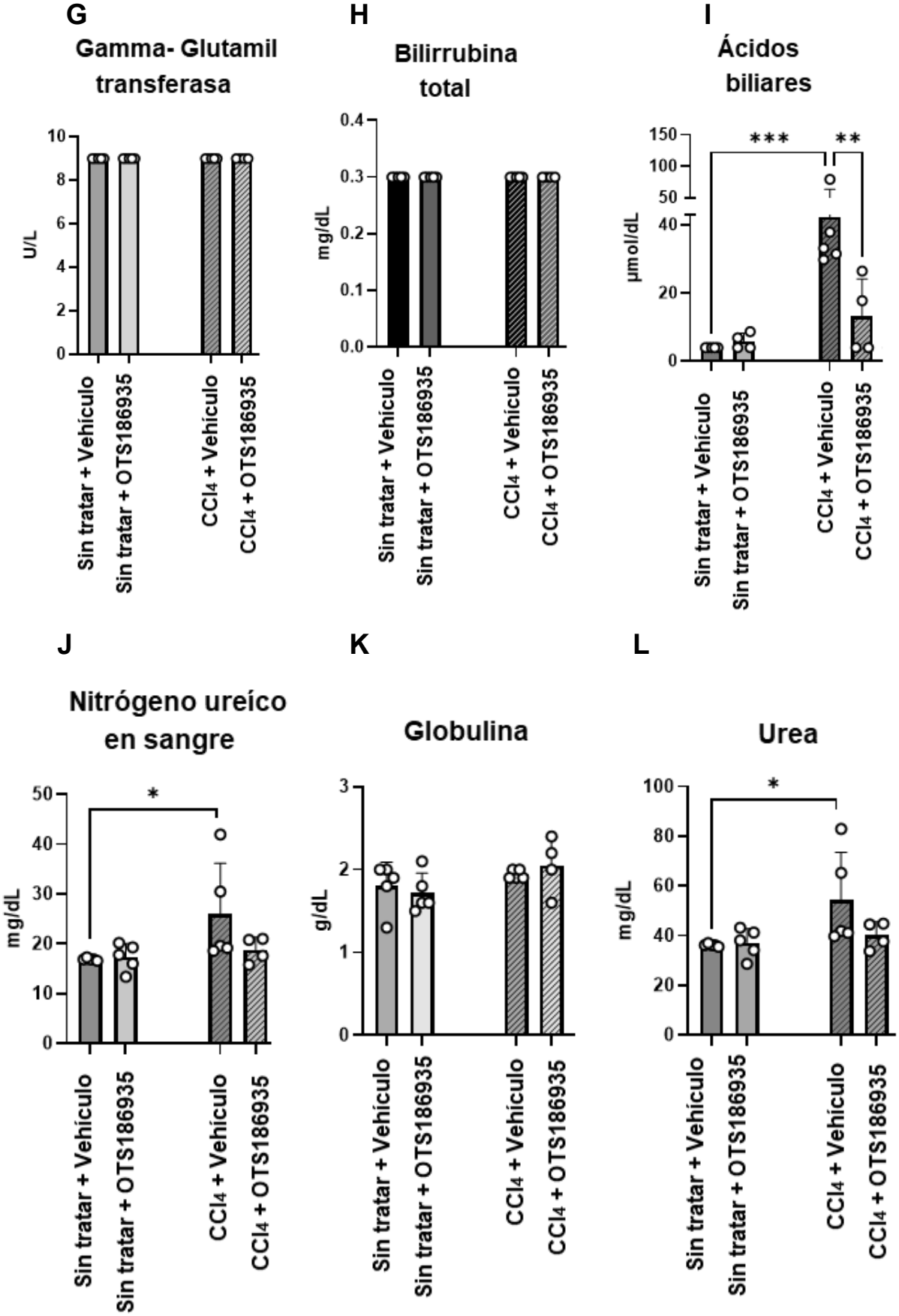

G
Gamma- Glutamil transferasa
U/L
10
8
6
4
2
0
Sin tratar + Vehículo
Sin tratar + OTS186935
CCl4 + Vehículo
CCl4 + OTS186935
H
Bilirrubina total
mg/dL
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
Sin tratar + Vehículo
Sin tratar + OTS186935
CCl4 + Vehículo
CCl4 + OTS186935
I
Ácidos biliares
µmol/dL
150
100
50
40
20
0
***
**
Sin tratar + Vehículo
Sin tratar + OTS186935
CCl4 + Vehículo
CCl4 + OTS186935
J
Nitrógeno ureíco en sangre
mg/dL
50
40
30
20
10
0
*
Sin tratar + Vehículo
Sin tratar + OTS186935
CCl4 + Vehículo
CCl4 + OTS186935
K
Globulina
g/dL
3
2
1
0
Sin tratar + Vehículo
Sin tratar + OTS186935
CCl4 + Vehículo
CCl4 + OTS186935
L
Urea
mg/dL
100
80
60
40
20
0
*
Sin tratar + Vehículo
Sin tratar + OTS186935
CCl4 + Vehículo
CCl4 + OTS186935

FIG. 2

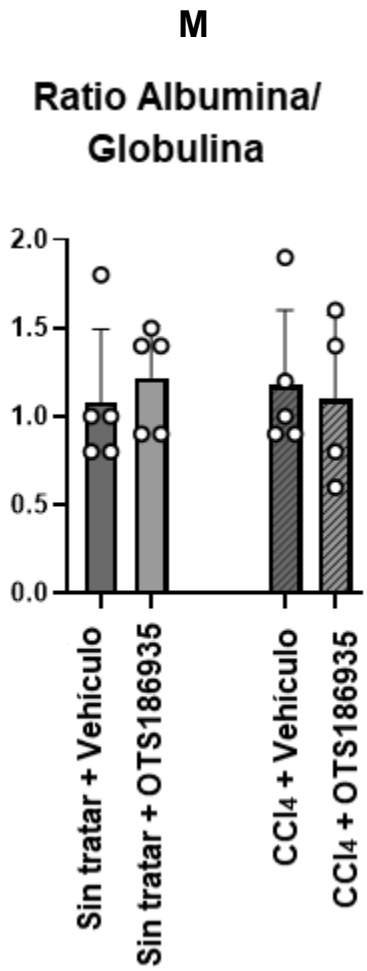

M
Ratio Albumina/
Globulina
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Sin tratar + Vehículo
Sin tratar + OTS186935
CCl4 + Vehículo
CCl4 + OTS186935

FIG. 2

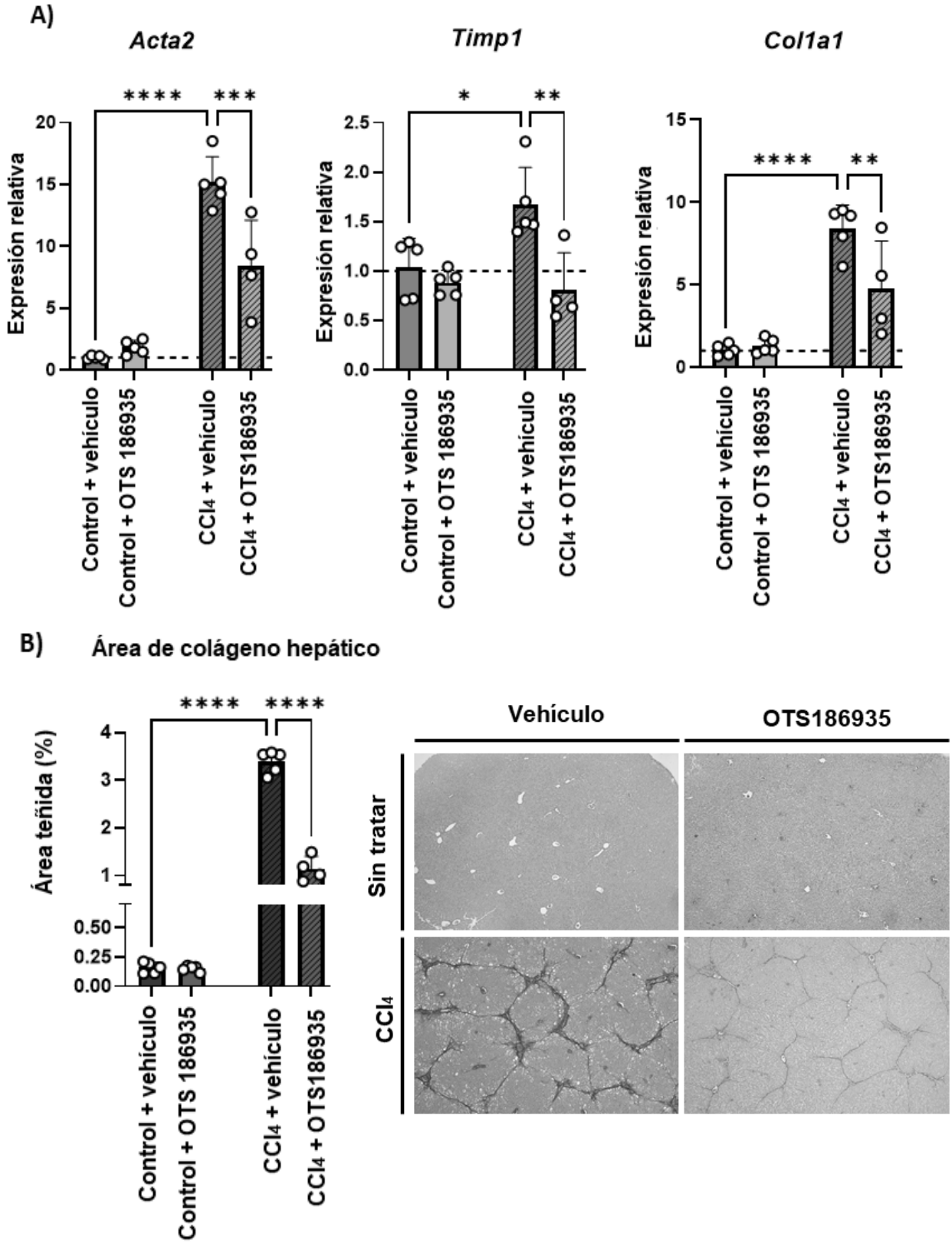

A)
Acta2
Timp1
Col1a1
Expresión relativa
****
***
*
**
****
**
Control + vehículo
Control + OTS 186935
CCl4 + vehículo
CCl4 + OTS186935
B)
Área de colágeno hepático
Área teñida (%)
****
****
Vehículo
OTS186935
Sin tratar
CCl4

FIG. 3

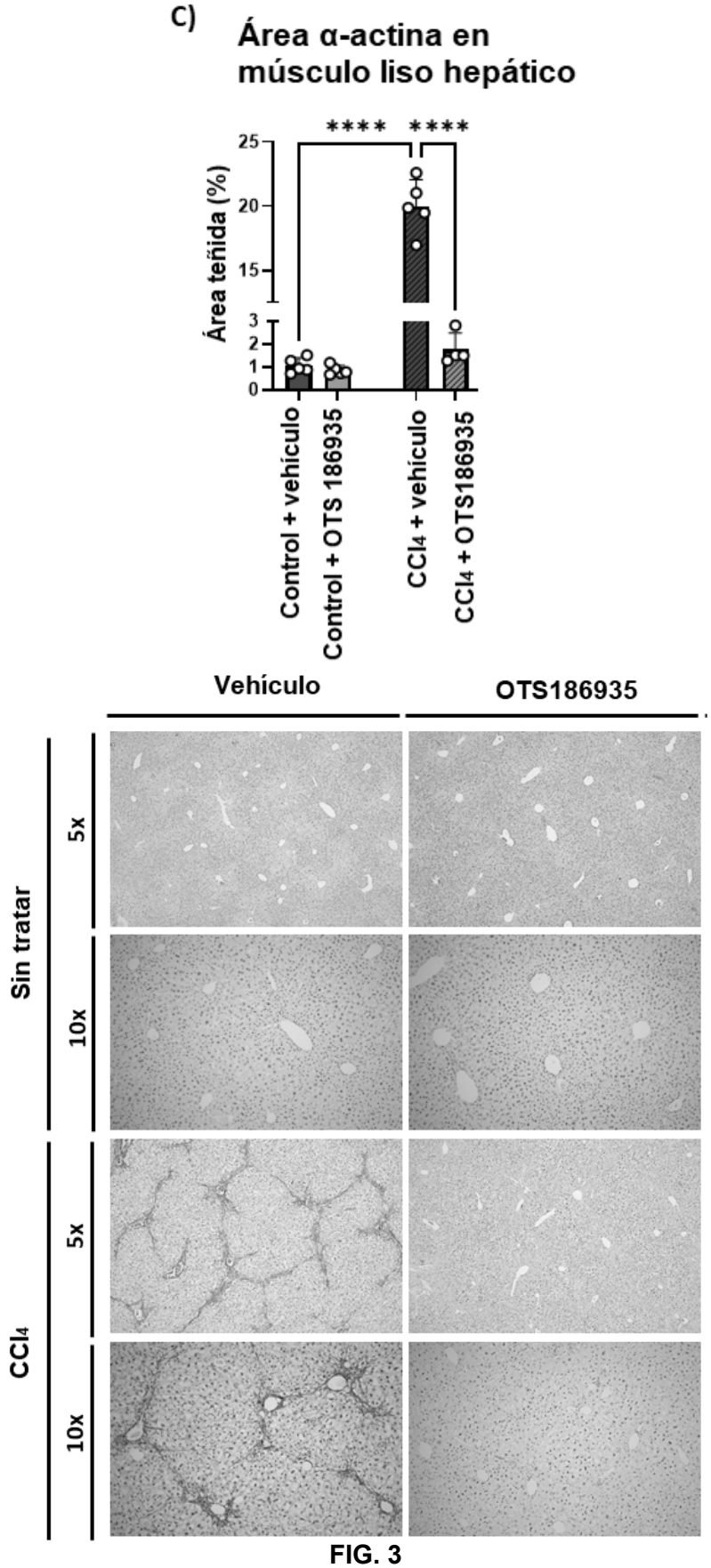

C)
Área α-actina en músculo liso hepático
****
****
Área teñida (%)
25
20
15
3
2
1
0
Control + vehículo
Control + OTS 186935
CCl4 + vehículo
CCl4 + OTS186935
Vehículo
OTS186935
Sin tratar
CCl4
5x
10x
5x
10x

FIG. 3

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(21) N.º solicitud: 202530317

(22) Fecha de presentación de la solicitud: 15.04.2025

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) Int. CI.: ***A61K31/4184*** (2006.01)
A61P43/00 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	(56) Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	CN 108685928 A (GENHOUSE PHARMACEUTICAL SUZHOU CO LTD) 23/10/2018, resumen; descripción.	1,2,4,5,7,8,10,12,14,16
X	KONG MING et al. "Histone methyltransferase Suv39h1 regulates hepatic stellate cell activation and is targetable in liver fibrosis". Gut, 05/04/2024, Vol. 73, Páginas 810-824, ISSN 1468-3288 (electronic), <DOI: 10.1136/gutjnl-2023-329671>. Ver resumen; resultados.	1,2,4,5,7,8,10,12,14,16
A	VOUGIOUKLAKIS T et al. "Development of novel SUV39H2 inhibitors that exhibit growth suppressive effects in mouse xenograft models and regulate the phosphorylation of H2AXz". Oncotarget. Impact Journals LLC, 01/08/2018, Vol. 9, Páginas 31820-31831, ISSN 1949-2553 (electronic), <DOI: 10.18632/oncotarget.25806>. Ver resumen.	1-17

Categoría de los documentos citados
X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica
O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

☒ para todas las reivindicaciones ☐ para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe	Examinador	Página
12.03.2026	N. Martín Laso	1/2

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

AbS colección patentes, AbS colección literatura no patente, INVENES/LATIPAT