



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

⑪ Número de publicación: **2 227 560**

⑤① Int. Cl.⁷: **A61K 49/00**
A61K 51/00

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑧⑥ Número de solicitud europea: **95936815 .0**

⑧⑥ Fecha de presentación: **17.10.1995**

⑧⑦ Número de publicación de la solicitud: **0787017**

⑧⑦ Fecha de publicación de la solicitud: **06.08.1997**

⑤④ Título: **Preparación diagnóstica para la detección de *Helicobacter pylori*.**

③⑩ Prioridad: **02.11.1994 SE 9403755**

④⑤ Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.04.2005

④⑤ Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.04.2005

⑦③ Titular/es: **Orexo AB.**
Holmvägen, 22
756 61 Uppsala, SE

⑦② Inventor/es: **Nyström, Christer;**
Lundqvist, Thomas y
Pettersson, Anders

⑦④ Agente: **Díez de Rivera y Elzaburu, Ignacio**

ES 2 227 560 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

Preparación diagnóstica para la detección de *Helicobacter pylori*.

5 Las enfermedades que se relacionan con las úlceras gástricas son un serio problema de salud pública y cuestan a la comunidad grandes sumas de dinero en forma de gastos sanitarios y pérdida de capacidad de trabajo. Está bien establecido que la presencia de *Helicobacter pylori* en el estómago es un prerequisite necesario para el desarrollo de úlceras de estómago y/o úlceras de duodeno. Si la bacteria no está presente en el estómago, la úlcera no se desarrollará. También está establecido que cuando una infección por *Helicobacter pylori* se cura con la ayuda de antibióticos, no
10 habrá recaídas en enfermedades de úlcera de estómago. Las enfermedades de úlcera de estómago se consideran por lo tanto enfermedades causadas por bacterias que pueden y deberán ser curadas.

Hay una necesidad grande de un diagnóstico sencillo y fiable en este sentido, puesto que grandes poblaciones de pacientes afectadas por problemas gastrointestinales necesitarán ser examinadas en relación con la presencia de una
15 infección por *Helicobacter pylori*.

La presente invención se basa en la observación de que la bacteria *Helicobacter pylori* produce la enzima ureasa en muy grandes cantidades. La enzima ureasa no se encuentra normalmente en seres humanos, y su presencia en el estómago indica que *Helicobacter pylori* está presente. *Helicobacter pylori* ha establecido un hábitat ecológico en el
20 estómago humano. La bacteria prolifera a pH neutro, el cual se encuentra debajo de la capa mucosa del estómago. La bacteria produce grandes cantidades de la enzima ureasa, la cual a su vez cataliza la degradación de urea a amoníaco y bicarbonato. El bicarbonato luego se transforma, en el medio ácido del estómago, en dióxido de carbono y agua.

En Suecia, aproximadamente 470.000 pacientes solicitan cada año asistencia sanitaria por problemas similares a la úlcera de estómago. La posibilidad de ser capaces de diagnosticar y tratar las infecciones por *Helicobacter pylori* de una manera sencilla y fiable es por consiguiente de gran interés para el paciente y también desde el punto de vista de la economía sanitaria.

La presente invención se refiere a una preparación sólida para el diagnóstico sencillo y fiable de la actividad ureasa existente en el estómago en concomitancia con la infección por *Helicobacter pylori*.

Métodos actuales de mostrar la presencia de Helicobacter pylori

Métodos de biopsia

35 Una característica común de estos métodos (cultivo de la bacteria, examen histológico, prueba rápida de la ureasa) es que se llevan a cabo sobre material de biopsia. Esto significa que el paciente debe someterse a un examen gastroscópico del estómago con el uso de fibras ópticas durante el cual se toman muestras de tejido del epitelio del estómago. Este examen es tanto caro como desagradable para el paciente.

Métodos serológicos

Una característica común de estos métodos consiste en determinar la presencia de anticuerpos específicos contra *Helicobacter pylori* en sangre o en la secreción estomacal. Un inconveniente de estos métodos es que es necesario
45 tomar muestras de sangre o secreciones del estómago. Ninguno de los dos son métodos serológicos capaces de mostrar la presencia de la bacteria al hacer el examen.

Se necesitan aproximadamente veinte días desde el momento de la infección por *Helicobacter pylori* hasta el momento en que se manifiestan los anticuerpos contra la bacteria.

Después del tratamiento con éxito de la infección bacteriana, un elevado contenido de anticuerpos permanece en sangre durante largo tiempo, limitando así en gran medida, la posibilidad de chequear con precisión el estado de los
50 pacientes.

Prueba del aliento con urea

El método está basado en la producción de la enzima ureasa por la bacteria *Helicobacter pylori*. La ureasa cataliza la degradación de la urea a amoníaco y bicarbonato. Luego en el medio ácido del estómago, el bicarbonato se transforma en dióxido de carbono y agua.

60 Actualmente, la prueba del aliento con urea se lleva a cabo de la siguiente forma: el paciente se traga una solución acuosa que contiene urea marcada isotópicamente (¹¹C, ¹³C, ¹⁴C). En presencia de *Helicobacter pylori* que produce ureasa y el ácido del estómago, la urea se descompone de tal forma que los átomos de carbono marcados isotópicamente se transforman en dióxido de carbono y se secretan a través del aire exhalado. Se determina la cantidad de
65 dióxido de carbono marcado isotópicamente en el aire exhalado.

Las ventajas de este método son que el examen no es invasivo, es decir, que el paciente no necesita someterse a instrumentación (gastroscopia) y tampoco necesita que se tomen muestras de sangre o muestras de secreción estoma-

cal. Además, puesto que la urea suministrada al paciente se dispersa por toda la superficie del estómago, el hecho de que la bacteria tenga un área de distribución muy irregular carece de importancia. La prueba del aliento con urea tiene inconvenientes por tres motivos distintos:

1. La urea marcada isotópicamente se ingiere como una solución acuosa. Esto significa que la urea se puede descomponer por bacterias que producen ureasa en la cavidad bucal y la faringe del paciente, lo cual puede dar como resultado indicaciones falsamente positivas con respecto a la presencia de *Helicobacter pylori*.
2. Para que la prueba tenga éxito, es necesario que una cantidad dada de iones hidrógeno esté presente en el estómago, con el fin de que el bicarbonato formado se transforme en dióxido de carbono. Muchos pacientes que padecen úlceras de estómago son tratados con inhibidores de la secreción ácida, lo cual da un resultado de la prueba falsamente negativo cuando tales pacientes se diagnostican de acuerdo con la presente metodología.
3. La urea marcada isotópicamente tiene solo una corta estabilidad química en solución acuosa, lo cual ocasiona dificultades prácticas cuando se examina al paciente clínicamente.

Por lo dicho anteriormente, es evidente que se conocen en la técnica varios métodos de diagnóstico que muestran la presencia de *Helicobacter pylori* en el estómago, pero que estos métodos están cargados con un cierto número de inconvenientes, por ejemplo son deficientes en mostrar la presencia de la bacteria de manera absoluta o son desagradables para el paciente.

Por lo tanto, hay una necesidad de mejorar tales métodos de diagnóstico a fin de que se pueda hacer un diagnóstico más fiable en todas las condiciones, y mejorar el uso práctico de tales métodos.

El documento de patente DD-A-294634 describe el uso de urea marcada con ^{15}N para el diagnóstico de infecciones por *H. pylori*. En este método, la urea marcada se administra en un pudín, lo que no se puede decir que esté libre de agua, y el amoníaco formado se analiza en la orina.

E. Lotterer *et al.* en Z. Gastroenterol., (Feb. 1993) 31(2), p. 115-9, describe la detección de infecciones por *H. pylori* en pacientes que se han sometido a una gastrectomía parcial. Se administró a los pacientes urea marcada con ^{13}C y el dióxido de carbono formado se analizó en el aliento. Con respecto al método de administración de la urea, se hizo referencia a otras dos publicaciones, a saber, R.H. Eggers *et al.* en European Journal of Gastroenterology and Hepatology, 1990, 2:437-444, y E. Lotterer *et al.*, en Z. Gastroenterol. 1991, 29:590-594. A partir de estas dos referencias queda claro que solamente se contempla la administración de la urea marcada en solución.

Divulgación general de la invención

Al elaborar una cápsula, un comprimido o alguna otra preparación sólida que tiene una alta velocidad de desintegración y que contiene urea marcada isotópicamente (^{11}C , ^{13}C , ^{14}C) junto a un ácido, con la prueba del aliento con urea se obtienen las siguientes cuatro importantes ventajas en relación con el diagnóstico de las afecciones de úlcera gástrica:

1. Cuando la urea marcada isotópicamente se administra en forma de preparación sólida, se previene la degradación por bacterias que producen ureasa en la cavidad bucal y la faringe antes de que la urea alcance el estómago. Esto reduce el número de resultados falsamente positivos y con eso se incrementa significativamente la fiabilidad del examen.
2. La administración de un ácido débil al mismo tiempo que se administra la urea marcada isotópicamente, también permite que la prueba del aliento se realice durante el tratamiento de inhibición continuado con un supresor de la secreción de ácido. Esto es un progreso significativo, puesto que la mayoría de los pacientes que se someten a la prueba del aliento con urea se tratan de manera crónica con potentes fármacos inhibidores de la secreción ácida. Esto reduce considerablemente la aparición de resultados falsamente negativos.
3. Se evitan los problemas causados por la limitada estabilidad química de la urea en solución acuosa, debido a que la urea marcada isotópicamente y el ácido débil en cápsula, comprimido u otra forma sólida son estables durante un periodo de tiempo relativamente largo. Esto ofrece ventajas prácticas significativas con respecto a la distribución y aplicación de la prueba del aliento con urea.
4. El uso de preparaciones sólidas preparadas de antemano (por ejemplo comprimidos), ofrece también ventajas con respecto a la exactitud de la dosis y al ahorro de tiempo, en comparación con la preparación de la solución a base de agua de la prueba establecida.

Para poder lograr estas significativas ventajas, es necesario elaborar una preparación sólida tal que facilite la protección de su contenido de la influencia de la ureasa en la cavidad bucal y en la faringe, y también que se descomponga rápida y completamente en el estómago.

Descripción técnica de la invención

Se proporciona, de acuerdo con la invención, una preparación básicamente sin agua que contiene principalmente urea marcada con ^{11}C , ^{13}C ó ^{14}C y un ácido, por ejemplo ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido tartárico o acigluamin, en una preparación sólida destinada para administración oral a seres humanos. Sin embargo, se debe indicar que la invención no se restringe únicamente a urea y que la presente invención también incluye otras sustancias o sustratos que estén influenciados por la actividad del *Helicobacter pylori* y que se puedan analizar fácilmente.

La preparación contendrá suficiente ácido para producir un valor de pH suficientemente bajo en el estómago, en el momento en que se ingiera. En este sentido, un valor adecuado de pH es por debajo de $\text{pH}=4$. La cantidad de ácido específico necesario para obtener el pH deseado en el estómago de un paciente se puede determinar fácilmente por una persona experta, sobre la base de simples pruebas rutinarias.

La preparación farmacéutica según la invención está compuesta de tal modo que la urea marcada isotópicamente y el ácido, se liberarán fundamentalmente justo cuando la preparación alcance el estómago. Una forma de preparación preferida incluye la urea- ^{13}C y el ácido cítrico sin agua. La preparación puede ser un comprimido convencional, opcionalmente presentado con un recubrimiento de solubilidad rápida, aunque alternativamente puede tener la forma de una preparación en cápsula. En este último caso, se prefieren las así llamadas cápsulas de gelatina dura (cápsulas operculadas), aunque las de gelatina blanda también se pueden usar. El único prerequisite es que la estabilidad química sea suficientemente alta y que el contenido de sustancia activa de la preparación se pueda liberar y disolver rápidamente. La estabilidad química normalmente mejora cuando las sustancias activas y las sustancias auxiliares se presentan en forma sólida. La estabilidad química normalmente será suficientemente alta cuando se usa una solución oleosa junto con una cápsula de gelatina blanda.

También se pueden usar otras preparaciones sólidas. Sin limitar la lista de esas preparaciones que pueden usarse en este sentido, se puede mencionar que tales preparaciones pueden incluir soluciones sólidas, dispersiones sólidas y las llamadas preparaciones en pelet. Por preparaciones en pelet se quiere decir granos más pequeños o más grandes producidos por granulación o por extrusión/esferonización. La sustancia activa se puede luego incorporar en estos pelets o adherirse a sus superficies. Los pelets activos luego pueden comprimirse en forma de comprimido de rápida desintegración o pueden llenar cápsulas de gelatina dura.

Los comprimidos, que son la forma preferida, se pueden producir con ayuda de sustancias auxiliares y etapas de procesos bien conocidos por la persona experta. De ese modo, con el fin de obtener una liberación y disolución de máxima rapidez, preferiblemente se usan componentes básicamente solubles en agua y sustancias auxiliares que aceleran la desintegración del comprimido. Las sustancias auxiliares usadas pueden tener la forma de agentes desintegrantes o de ruptura de productos farmacéuticos del mismo tipo de los conocidos por la persona experta. Agentes particularmente adecuados a este respecto, son los que se hinchan en agua de forma apreciable por hidratación, a un volumen que corresponde a 10-20 veces su volumen seco. Ejemplos de tales agentes incluyen derivados de celulosa y derivados de almidón en forma de polímeros reticulados, los cuales son insolubles en agua pero que se hinchan de forma apreciable en su seno. Los derivados de la polivinilpirrolidona son otro ejemplo de tales agentes. Una goma de celulosa de alta capacidad de hinchamiento en agua y comercializada con el nombre de Ac-Di-Sol® por FMC Corporation, U.S.A., es un ejemplo específico de un agente desintegrante de productos farmacéuticos adecuado. Se pueden usar también otros tipos de agentes desintegrantes de productos farmacéuticos, y la persona experta no tendrá problemas en elegir un agente adecuado.

En el caso de una forma particularmente preferida, la sustancia activa urea tiene una calidad de partícula muy fina. En esta forma, el tamaño de partícula es preferiblemente más pequeño de $200\ \mu\text{m}$, y más preferiblemente más pequeño de $20\ \mu\text{m}$. Sin embargo esto no excluye el uso de sustancias activas con partículas de tamaño de partícula más grande, cuando el resto de la formulación así lo permita. Tales valoraciones son bien conocidas por la persona experta.

Ejemplo

Se prepararon comprimidos de acuerdo con lo que viene a continuación, con objeto de probar y comparar la invención con las técnicas convencionales (solución acuosa);

Los ingredientes de la siguiente composición se mezclaron en un mezclador rotatorio de doble cono convencional. Luego se compactaron los comprimidos en una así llamada prensa de excéntricas que tiene punzones de 12 mm enfrentados de forma cóncava.

Composición de 1 comprimido

1.	Urea, ¹³ C	50 mg
2.	Ácido cítrico anhidro	63 mg
3.	Avicel® Ph 101	60 mg
4.	Ac-Di-Sol®	24 mg
5.	Estearato de Magnesio	3 mg

Avicel® Ph 101 es el nombre comercial de una celulosa microcristalina comercializada por FMC Corporation, U.S.A.

Ac-Di-Sol® es el nombre comercial de una goma de celulosa modificada de alta capacidad de hinchamiento en agua de FMC Corporation, U.S.A. En este caso, su función es como agente desintegrante del producto farmacéutico para una rápida desintegración del comprimido.

En pruebas llevadas a cabo en pacientes, se ingirieron por los respectivos pacientes bien dos comprimidos (que corresponden a 100 mg de urea) o bien 2,5 ml de solución acuosa que también contiene 100 mg de urea.

Al hacer una comparación entre la urea marcada isotópicamente administrada de acuerdo con una técnica convencional (solución acuosa) y una preparación según la invención, se observó dióxido de carbono marcado isotópicamente en el aire exhalado de ocho pacientes que carecían de la bacteria en el estómago, después de diez minutos desde la hora de ingestión de la solución acuosa.

Cuando la urea marcada isotópicamente se ingirió en forma de una preparación según la invención, no se observó dióxido de carbono marcado isotópicamente en el aire exhalado de estos pacientes.

Al hacer una comparación entre la urea marcada isotópicamente en solución acuosa y la urea marcada isotópicamente en una preparación sólida según la invención con diez pacientes que se conocía que tenían bacterias en el estómago, se observaron cantidades notablemente elevadas de dióxido de carbono marcado isotópicamente en el aire de exhalación diez minutos después de haber tomado el comprimido. Cuando la urea marcada isotópicamente se tomó en solución acuosa, fue necesario esperar unos diez minutos más, antes de poder decir de modo concluyente que las cantidades de dióxido de carbono marcado isotópicamente medidas, provenían de la ureasa del estómago.

Cada uno de los diez pacientes citados anteriormente se trataron con fármacos supresores de ácido durante un periodo de una semana. Las pruebas convencionales del aliento con urea usando urea marcada isotópicamente en solución acuosa, mostraron un resultado negativo en todos los casos.

Al usar urea marcada isotópicamente en una preparación sólida con adición de ácido según la invención, se determinó la actividad de la ureasa en el estómago de cada uno de los diez pacientes.

(Tabla pasa a página siguiente)

TABLA 1

Recopilación de los resultados obtenidos al diagnosticar *Helicobacter pylori* con la ayuda de la urea marcada isotópicamente en solución acuosa y en una preparación sólida elaborada según la invención.

Método	Falsamente positivo		Falsamente negativo		Número de pacientes estudiados
	10 min.	20 min.	10 min.	20 min.	
Solución	8	0	-	-	18
Comprimido	0	0	-	-	18
Solución + tratamiento con un inhibidor de la secreción ácida.	-	-	10	10	10
Comprimido + tratamiento con un inhibidor de la secreción ácida.	-	-	0	0	10

REIVINDICACIONES

1. El uso de urea marcada isotópicamente para la preparación de una composición para detectar la presencia de la actividad de la ureasa en el estómago en relación con una infección por *Helicobacter pylori*, en el que dicha composición se formula como una composición sólida básicamente sin agua, y la urea marcada isotópicamente es influenciada por la actividad de dicho *Helicobacter pylori* para formar un producto de reacción detectable, el cual acompaña al aire exhalado y ahí se analiza.

2. El uso según la reivindicación 1, en el que la composición también comprende un ácido sólido soluble en agua.

3. El uso según la reivindicación 1 ó 2, en el que la urea marcada isotópicamente se marca con ^{11}C , ^{13}C y/o ^{14}C .

4. El uso según la reivindicación 2 ó 3, en el que el ácido es uno o más de los ácidos, ácido ascórbico, ácido tartárico, ácido cítrico, y acigluamin.

5. El uso según una cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en el que el ácido está presente en la composición en una cantidad que generará un pH por debajo de 4 en el estómago.

6. El uso según una cualquiera de las reivindicaciones 2-5, en el que la composición se formula para una disolución rápida en el estómago después de haberse administrado.

7. El uso según una cualquiera de las reivindicaciones 2-6, en el que la urea marcada isotópicamente tiene un tamaño de partícula básicamente por debajo de $200\ \mu\text{m}$, y preferiblemente además por debajo de $20\ \mu\text{m}$.