

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 357 595**

21 Número de solicitud: 200930781

51 Int. Cl.:

**G01N 33/53** (2006.01)

**G01N 33/557** (2006.01)

**A61K 31/424** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación: **02.10.2009**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **28.04.2011**

43 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:  
**28.04.2011**

71 Solicitante/s: **Instituto Mediterráneo para el Avance de la Biotecnología y la Investigación Sanitaria (Fundación IMABIS)**  
**Avda. Carlos Haya, 82 - Pabellón A 7ª Planta**  
**29010 Málaga, ES**

72 Inventor/es: **Torres Jaén, María José y Blanca Gómez, Miguel**

74 Agente: **Pons Ariño, Ángel**

54 Título: **Composición de ácido clavulánico y uso para el diagnóstico en alergología.**

57 Resumen:

Composición de ácido clavulánico y uso para el diagnóstico en alergología.

Composición que comprende como único principio activo el ácido clavulánico, o cualquiera de sus sales, profármacos, derivados, análogos o cualquiera de sus combinaciones, en una concentración superior a 10 mg/mL, uso de la composición para el diagnóstico de la alergia al ácido clavulánico, envase primario que comprende dicha composición, y kit de identificación de alergia al ácido clavulánico.

ES 2 357 595 A1

## DESCRIPCIÓN

Composición de ácido clavulánico y uso para el diagnóstico en alergología.

5 La presente invención se encuentra dentro del campo de la medicina, y se refiere a una composición de ácido clavulánico de concentración determinada y a su uso para el diagnóstico de la alergia al ácido clavulánico. También se refiere a un kit de diagnóstico que comprende dicha composición.

## Estado de la técnica anterior

10 Las alergias medicamentosas son reacciones adversas provocadas por una respuesta inmunológica del organismo, dosis independientes, difícil de predecir. Las reacciones a los fármacos  $\beta$ -lactámicos representan alrededor del 30% de éstas alergias, siendo las reacciones inmediatas a las penicilinas la causa más frecuente de alergia a medicamentos mediada por mecanismos inmunológicos específicos. Estas reacciones aparecen frecuentemente dentro de una hora tras la toma del medicamento y están mediadas por anticuerpos IgE específicos (Antúnez *et al.*, 2006. *Pharm Des* 12:3327-33).

15 Las diferentes penicilinas involucradas en las reacciones y los modelos de sensibilización han cambiado a lo largo del tiempo, y están relacionados con el número de personas que toman el fármaco y el tipo concreto de penicilina prescrita (Blanca 1995. *Allergy* 50:777-82, Bigby 2001. *Arch Dermatol* 137:765-70). Diferentes estudios han detectado que la amoxicilina (AX) es la penicilina que más frecuentemente se encuentra involucrada en la sensibilización y en la inducción de la respuesta alérgica, con un papel relevante de la cadena lateral como parte de la estructura del determinante alérgico (Torres *et al.*, 2003. *Allergy* 58: 961-72). Diferentes estudios han mostrado respuestas alérgicas sólo a la AX, hecho que ha llevado a la inclusión de este fármaco en el panel de haptenos recomendados por el grupo de expertos en alergia a fármacos de la *European Academy of Allergy and Clinical Immunology* para la realización de pruebas cutáneas, además de los determinantes mayores y menores de la bencilpenicilina (BP) (Blanca *et al.*, 2009. *Allergy* 64:183-93).

20 El ácido clavulánico es una betalactama con un anillo tetracarbonilo, careciendo de la cadena lateral en la posición C6, y con una oxazolidina en lugar del anillo de las tiazolidinas de las penicilinas. Aunque tiene un débil efecto antibacteriano, se ha comercializado unido a la AX desde 1981 por su capacidad de inhibir la betalactamasa. El uso creciente de esta asociación ha llevado a cuestionarse si el ácido clavulánico puede inducir respuesta alérgica de forma específica y selectiva al mismo. Estudios iniciales con este fármaco han mostrado una baja capacidad inmunogénica y una muy baja capacidad de inducir respuestas alérgicas (Edwards *et al.*, 1988. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 85:184-9). Sin embargo, posteriormente se han publicado trabajos que sugieren que la capacidad inmunogénica de esta droga es mayor que lo que inicialmente se pensaba (González-Mancebo *et al.*, Simultaneous drug allergies. *Allergy* 2002;57:963-4; Raison-Peyron *et al.*, 2003. *Ann Pharmacother.* 37:1146-7; Longo *et al.*, 2008. *J invest Allergol Clin Immunol* 18:473-5).

25 No existen directrices específicas para el diagnóstico de reacciones alérgicas inmediatas al ácido clavulánico siendo el enfoque general que se sigue el mismo que para el diagnóstico de alergias a otros betalactámicos (Torres *et al.*, 2003. *Allergy* 58: 961-72, Blanca *et al.*, 2009. *Allergy* 64:183-93). Sin embargo, debido a que los determinantes de ácido clavulánico no se encuentran comercialmente disponibles, los investigadores han empleado la combinación AX-CLV parenteral para la evaluación de estos pacientes (Cahen Y *et al.*, 1977 *Allergy* 52:117-8; González-Mancebo *et al.*, 2002. *Allergy* 57:963-4; Raison-Peyron *et al.*, 2003. *Ann Pharmacother.* 37:1146-7; Longo *et al.*, 2008. *J invest Allergol Clin Immunol* 2008;18:473-5). En el supuesto de que den positivos, estos casos con reacciones anafilácticas con AX-CLV son considerados como alergia al ácido clavulánico.

30 Estos datos, junto con la experiencia de los inventores evaluando pacientes con reacciones urticariales y anafilácticas tras la administración de AX-CLV, ha llevado a los mismos a sospechar que el ácido clavulánico es capaz de inducir reacciones mediadas por IgE. Los autores de la presente invención han evaluado un número suficiente de pacientes con reacciones alérgicas inmediatas, y han confirmado que el ácido clavulánico es capaz de provocar una reacción alérgica de este tipo.

35 Con el incremento del consumo de AX-CLV, ha surgido en diferentes partes del mundo un número creciente de pacientes con reacciones inmediatas a esta combinación. Los estudios previos han sugerido que la AX era el principio activo de los casos en donde esta combinación estaba involucrada en una reacción alérgica (Torres *et al.*, 2001 *Allergy* 2001;56:850-856; Bousquet *et al.*, 2005. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 15:1314-6; Bousquet *et al.*, 2008. *Clin Exp Allergy* 38:185-90; Ponvert *et al.*, 2007. *Allergy* 62:42-6).

40 El mayor inconveniente en la evaluación de pacientes con posibles respuestas inmediatas al ácido clavulánico es la falta de test *in vivo* e *in vitro* específicos para este fármaco. El ácido clavulánico es un inhibidor enzimático de las betalactamasas (enzimas generadas por las bacterias capaces de interactuar con antibióticos betalactámicos para degradarlos), se encuentra frecuentemente en combinación con antibióticos, como la amoxicilina o ticarcilina, para evitar la degradación de éstos por las enzimas bacterianas. Puesto que no se encuentran disponibles composiciones farmacéuticas útiles en el diagnóstico de alergia específica al ácido clavulánico, es necesario desarrollar dichas composiciones y un kit capaz de identificar y diagnosticar dichas alergias.

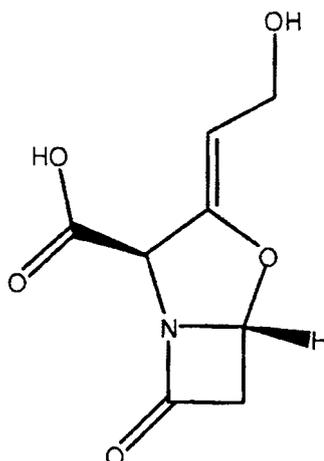
**Descripción de la invención**

Los autores de la presente invención han desarrollado una composición que permite su uso en el diagnóstico sensible y específico, y la identificación de individuos con alergias al ácido clavulánico.

5 Por tanto, un primer aspecto de la invención se refiere a una composición, de ahora en adelante composición de la invención, que comprende como único principio activo ácido clavulánico, o cualquiera de sus sales, profármacos, derivados, análogos, o cualquiera de sus combinaciones, en una concentración superior a 10 mg/mL. Preferiblemente, el ácido clavulánico, o cualquiera de sus sales, profármacos, derivados, análogos, o cualquiera de sus combinaciones, se encuentra en una concentración de entre 12 mg/mL y 30 mg/mL, más preferiblemente de entre 15 mg/mL y 25 mg/mL, aún más preferiblemente de entre 18 mg/mL y 22 mg/mL. En una realización particular de la invención, la concentración del ácido clavulánico es de 20 mg/mL.

15 En los ejemplos de la invención se muestra que aunque el 30% de los pacientes dieron positivo para la prueba cutánea al ácido clavulánico y tuvo buena tolerancia a la AX, sólo el 18% se detectó por AX-CLV. Puesto que la sensibilidad a los determinantes de las betalactamas depende de las concentraciones, esas diferencias se deben a las concentraciones de ácido clavulánico empleadas (20 mg/mL cuando se emplea solo frente a 4 mg/mL cuando se usa AX-CLV). Por tanto, los autores de la presente invención han demostrado que para la detección de reacciones alérgicas al ácido clavulánico sensible y específica mediante pruebas cutáneas, se deben emplear concentraciones de 20 ácido clavulánico superiores a 10 mg/mL.

El ácido clavulánico (ácido (2*R*,5*R*,*Z*)-3-(2-hidroxiethyliden)-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]heptano-2-carboxílico), de fórmula (I):



Fórmula (I): ácido clavulánico.

50 y número CAS 58001-44-8, es un inhibidor de la enzima betalactamasa, que se emplea para combatir la resistencia a los antibióticos betalactámicos que presentan las bacterias que secretan esta enzima. En su forma más común se encuentra como sal de clavulanato potásico.

55 Tal como aquí se utiliza, el término “derivado” incluye tanto a compuestos farmacéuticamente aceptables, es decir, derivados del compuesto de fórmula (I), que pueden ser utilizados en la elaboración de un medicamento, como derivados farmacéuticamente no aceptables, ya que éstos pueden ser útiles en la preparación de derivados farmacéuticamente aceptables.

60 Asimismo, dentro del alcance de esta invención se encuentran los profármacos del compuesto de fórmula (I). El término “profármaco” tal como aquí se utiliza incluye a cualquier derivado del compuesto de fórmula (I), por ejemplo, ésteres, incluyendo ésteres de ácidos carboxílicos, ésteres de aminoácidos, ésteres de fosfato, ésteres de sulfonato de sales metálicas, etc., carbamatos, amidas, etc., que, cuando se administra a un individuo es capaz de generar, directa o indirectamente, dicho compuesto de fórmula (I), en dicho individuo. Ventajosamente, dicho derivado es un preparado que aumenta la biodisponibilidad del compuesto de fórmula (I) cuando se administra a un individuo o que potencia la liberación del compuesto de fórmula (I) en un compartimento biológico. La naturaleza de dicho derivado no es crítica siempre y cuando pueda ser administrado a un individuo y proporcione el compuesto de fórmula (I) en un compartimento biológico de un individuo. La preparación de dicho profármaco puede llevarse a cabo mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia.

## ES 2 357 595 A1

Como se ha descrito, la composición de la invención comprenderá como único principio activo, el ácido clavulánico, o cualquiera de sus sales, derivados, profármacos o análogos. Sin embargo, puede formularse de diversas formas con distintos vehículos o excipientes inertes, incluyendo aglutinantes, excipientes, agentes dispersantes, lubricantes, deslizantes, etc. En una realización más preferida, la composición de la invención además contiene un excipiente farmacéuticamente aceptable. En otra realización preferida, la composición de la invención además contiene un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los “excipientes” y “vehículos farmacéuticamente aceptables” que pueden ser utilizados en dichas composiciones son los vehículos conocidos por los técnicos en la materia. Así, entre los excipientes se encuentran, pero sin limitarnos, la celulosa microcristalina y la carboxi-metil-celulosa, trehalosa, buffers reguladores del pH debido a la inestabilidad de las sales del ácido clavulánico (como el clavulanato potásico), manitol, sorbitol, dextrina, dextrosa, lactosa, glucosa, sodio cristalino, silicalgel, etc. El ácido clavulánico, o sus sales, análogos, derivados o profármacos, pueden formularse de varias maneras. Así, la composición de la invención puede estar contenida dentro de una forma de dosificación tal como un gel, crema, ungüento, píldora, tableta, cápsula, líquido, suspensión, dispositivo osmótico, perla, *gránulo*, esferoide, particulado, pasta, pellet, sólido reconstituible, polvo, o líquido. Generalmente, si se encuentra en forma sólida, será posible su disolución o resuspensión antes de su aplicación. Preferiblemente, puede formularse como granulado para disolverse o resuspender en agua antes de su administración, para llevar a cabo el diagnóstico de individuos alérgicos a dicho principio activo. En otra realización preferida, puede formularse como una solución líquida. Son conocidas por los expertos en la materia diversas formas de formular el ácido clavulánico, teniendo en consideración su gran higroscopicidad y la rápida hidrólisis de sus sales, como el clavulanato potásico, en agua, como por ejemplo pero sin limitarse, mediante la adición de buffers de fosfato, citrofosfato, borato, dihidrato/sodio hexameta-fosfato, o cualquiera de sus combinaciones para conseguir el pH adecuado.

Otro aspecto se refiere al uso de la composición de la invención para la elaboración de un medicamento para el diagnóstico de la alergia al ácido clavulánico, o alternativamente, a la composición de la invención para su uso en el diagnóstico de la alergia al ácido clavulánico.

El término “medicamento”, tal y como se usa en esta memoria, hace referencia a cualquier sustancia usada para prevención, diagnóstico, alivio, tratamiento o curación de enfermedades en el hombre y los animales. En el contexto de la presente invención se refiere a la composición de la invención, que consiste en ácido clavulánico, o cualquiera de sus sales, profármacos, derivados, análogos, o cualquiera de sus combinaciones, en una concentración determinada, para el diagnóstico e identificación de individuos con alergia al ácido clavulánico.

Como se ha descrito anteriormente, el principio activo de la invención, el ácido clavulánico, puede formularse para su administración a un animal, y más preferiblemente a un mamífero, incluyendo al hombre, en una variedad de formas conocidas en el estado de la técnica. Así, puede estar, sin limitarse, en disolución acuosa estéril o en fluidos biológicos, tal como suero. Las disoluciones acuosas pueden estar tamponadas o no tamponadas y tienen componentes activos o inactivos adicionales. Los componentes adicionales incluyen sales para modular la fuerza iónica, conservantes incluyendo, pero sin limitarse a, agentes antimicrobianos, antioxidantes, quelantes, y similares, y nutrientes incluyendo glucosa, dextrosa, vitaminas y minerales. El principio activo de la invención y/o sus formulaciones pueden administrarse a un animal, incluyendo un mamífero y, por tanto, al hombre, en una variedad de formas, incluyendo, pero sin limitarse a, subcutáneo, o dérmico. Puesto que está destinado a su administración para el diagnóstico de alergia a dicho principio activo (al ácido clavulánico), por ejemplo, mediante una prueba cutánea en prick (skin prick test ó SPT), la forma de administración preferida será dérmica, y más preferiblemente subcutánea. En otra realización preferida, la administración se realiza inyectando el alérgeno (la composición de ácido clavulánico de la invención) bajo la superficie de la piel del antebrazo. Alternativamente, en otra realización preferida el alérgeno se puede administrar por vía intradérmica o aplicándolo en un parche sobre la superficie de la piel.

El SPT es el método diagnóstico más adecuado para demostrar la existencia de un mecanismo IgE mediado en una enfermedad alérgica, además es un método sencillo y rápido empleado de forma rutinaria en la práctica alergológica.

Como se emplea aquí, el término “principio activo”, “sustancia activa”, “sustancia farmacéuticamente activa”, “ingrediente activo” ó “ingrediente farmacéuticamente activo” significa cualquier componente que potencialmente proporcione una actividad farmacológica u otro efecto diferente en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento, o prevención de una enfermedad, o que afecta a la estructura o función del cuerpo del hombre u otros animales. El término incluye aquellos componentes que promueven un cambio químico en la elaboración del fármaco y están presentes en el mismo de una forma modificada prevista que proporciona la actividad específica o el efecto.

Otro aspecto de la invención se refiere a un envase primario que comprende la composición de la invención, cerrándose herméticamente el envase primario con un tapón o pistón de caucho que contiene caucho de clorobutilo/bromobutilo, preferiblemente de bromobutilo. En una realización preferida de este aspecto de la invención, el envase primario se selecciona de la lista que comprende: un vial, una botella, un cartucho, una jeringuilla prellenada, o cualquiera de sus combinaciones.

Otro aspecto de la invención se refiere a un kit para la identificación o el diagnóstico de individuos alérgicos al ácido clavulánico, que comprende la composición de la invención, o el envase primario de la invención. Dicho kit podrá contener, como es obvio, controles positivos (i.e. histamina hidrocliclorica) y negativos (como por ejemplo, los mismos excipientes o vehículos farmacéuticamente aceptables con los que se formule la composición de la invención) sin ninguna limitación. Puede contener también una o varias jeringuillas para administrar la composición de la invención, lancetas de cualquier tipo, como por ejemplo, pero sin limitarnos, lancetas de plástico tipo Morrow-Brown, y cualquier control que sirva para la medición de los resultados por planimetría.

## ES 2 357 595 A1

En esta memoria se define como “ $\beta$ -lactámicos” o “betalactámicos” una amplia clase de agentes incluyendo derivados de la penicilina, cefalosporinas, monobactams, carbacefem, carbapenems e inhibidores de la betalactamasa ( $\beta$ -lactamasa), que tienen en común la presencia de un anillo  $\beta$ -lactámico en su estructura molecular.

5 A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra “comprende” y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

10

### Breve descripción de las figuras

Fig. 1. Estructura química de la bencilpenicilina, amoxicilina y ácido clavulánico.

15

Fig. 2. Resultados del test cutáneo usando amoxicilina (20 mg/mL), amoxicilina - ácido clavulánico (20-4 mg/mL), y ácido clavulánico (20 mg/mL) en el paciente 55C. A la izquierda se muestran los resultados del prick test (todos negativos) y en la derecha los resultados intradérmicos (sólo positivos al ácido clavulánico).

20 Fig. 3. Media y desviación estándar de SI de BAT en casos positivos en el grupo B y C usando AX-CLV y ácido clavulánico a diferentes concentraciones (mg/ml). *AX-CLV expresa la concentración de amoxicilina en la combinación.*

25 Fig. 4. Media y desviación estándar de SI de BAT en casos positivos en el grupo B y C usando AX-CLV y ácido clavulánico a diferentes concentraciones (mg/ml). *AX-CLV expresa la concentración de ácido clavulánico en la combinación.*

30 Fig. 5. Efecto inhibitorio de la wortmanina en la activación de basófilos bajo diferentes condiciones, controles positivos (fMLP y anti-IgE) y con diferentes haptenos BP, AX, AX-CLV y ácido clavulánico a diferentes concentraciones (mg/ml). Estos datos muestran dos pacientes representativos del grupo C.

### Ejemplos

35 A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que ponen de manifiesto la especificidad y efectividad de la composición de la invención para la identificación o el diagnóstico de individuos con alergia al ácido clavulánico.

#### 40 *Pacientes y controles*

Se incluyeron todos los pacientes (N0307) evaluados en el Servicio de Alergología del Hospital Carlos Haya a causa de una reacción alérgica tras la administración de AX-CLV por un periodo de tres años (2006-2008). Tras completar la evaluación, aquellos pacientes que fueron finalmente diagnosticados como que habían tenido una reacción alérgica inmediata (Blanca *et al.*, 1990. *Clin Exp Allergy* 20:475-481; Torres *et al.*, 2001. *Allergy* 56:850-6), y con una prueba cutánea (skin test) positiva a cualquiera de las betalactamas derivadas usadas, fueron incluidos en el grupo de estudio. Se establecieron dos categorías clínicas: anafilaxis y urticaria. La anafilaxis se definió según el criterio de Sampson (Sampson *et al.*, 2006. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:391-7). El criterio para urticaria fue cuando las manifestaciones se limitaron exclusivamente a la piel y consistieron en edemas y habones cutáneos, con un halo eritematoso, acompañado de prurito, que palidece con la presión, en varios sitios del cuerpo, asociados o no con angioedema.

55 Treinta casos con un test cutáneo negativo para los determinantes mayores y menores de BP, peniciloil-polilisina (PPL), mezcla de determinantes menores (MDM), AX y ácido clavulánico con buena tolerancia a la AX-CLV fueron usados como control negativo.

El estudio fue aprobado por los comités de revisión institucionales relevantes y se obtuvo el consentimiento informado para los procedimientos de diagnóstico de los pacientes y los controles.

60

#### *Prueba cutánea (skin test)*

65 El test cutáneo se llevó a cabo usando 0.02 mL de solución preparada diariamente. Los reactivos empleados fueron PPL ( $5 \times 10^{-5}$ M), MDM ( $2 \times 10^{-2}$ M), ambos proporcionados por Diater (Madrid, España), AX (Glaxo Smithkline Beecham, Madrid, España) (20 mg/ml) y ácido clavulánico (Diater, Madrid, España) (20 mg/mL). En aquellos casos en los que fue positivo para ácido clavulánico, también se testó AX-CLV (Glaxo Smithkline Beecham, Madrid, España) a 20 mg/mL para AX y 4 mg/mL para ácido clavulánico (expresado como 20/4 mg/mL). Las concentraciones óptimas para el test del pinchazo intradérmico con ácido clavulánico y AX-CLV fueron determinadas probando diferentes

## ES 2 357 595 A1

concentraciones (4 y 20 mg/mL para ácido clavulánico y 5/1 y 20/4 mg/mL para AX-CLV). Se testó la falta de una respuesta irritante en un grupo de 30 controles.

5 En las pruebas cutáneas por pinchazo (*skin prick tests*), una pápula mayor de 3 mm con una respuesta negativa al control salino fue considerada positivo. En el test intradérmico, el diámetro de la pápula se marcó inicialmente y 20 minutos después de la prueba, y un incremento del diámetro mayor de 3 mm se consideró positivo.

### 10 *Prueba de Provocación con el Fármaco (Drug Provocation Test-DPT-)*

Se llevó a cabo un ensayo DPT simple ciego controlado por placebo usando BP, AX y AX-CLV a intervalos regulares y dosis crecientes. Este enfoque nos permitió clasificar pacientes como alérgicos a BP, AX ó ácido clavulánico.

### 15 *Prueba de activación de basófilos por citometría de flujo (Basophil activation test by flow cytometry -BAT-)*

20 La prueba BAT se llevó a cabo incubando la sangre completa con diferentes fármacos a cuatro diferentes concentraciones: BP (4, 2, 0.4 y 0.2 mg/mL); AX (2.5, 1.25, 0.25 y 0.05 mg/mL); AX-CLV (2.5/0.5, 1.25/0.25, 0.25/0.05 y 0.05/0.01 mg/mL) y ácido clavulánico (1.25, 0.5, 0.25 y 0.05 mg/mL). Estas concentraciones se eligieron en base a las curvas dosis-respuesta y estudios de citotoxicidad. Las células fueron analizadas por el citómetro FACSScalibur por incorporación de al menos 1000 basófilos por muestra, y los resultados fueron considerados positivos cuando el índice de estimulación (SI), calculado como el ratio entre el porcentaje de basófilos activados con los diferentes haptenos y el control negativo, fue  $\geq 2$  en al menos una de las concentraciones mencionadas arriba.

25 Con el fin de confirmar que la activación de los basófilos fue mediada por IgE se analizó el efecto inhibitorio de la wortmanina a diferentes concentraciones (5, 1, 0.1  $\mu$ M). Se realizó con los controles positivos (fMLP y anti-IgE) y los diferentes haptenos BP, AX, AX-CLV y ácido clavulánico a las concentraciones descritas anteriormente.

### 30 *Estudios estadísticos*

35 Las comparaciones de las variables cuantitativas sin una distribución normal (intervalos de edad y tiempo) se realizaron mediante el test de Kruskal-Wallis. Todos los valores P reportados representan test de dos colas, considerando valores  $\leq 0,05$  como estadísticamente significativos. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo usando el programa SPSS versión 15.0.

### *Resultados*

40 Del grupo inicial de 307 pacientes evaluados a causa de una posible reacción alérgica inmediata tras la administración de AX-CLV, 31 renunciaron o no completaron el estudio. De los restantes 276, el 19,9% fueron diagnosticados con una reacción alérgica inmediata a AX-CLV con una prueba cutánea positiva a diferentes determinantes de la penicilina. En aquellos con un test cutáneo negativo (N=221), se realizó la DPT, con el siguiente resultado: 199 tuvieron una buena tolerancia a BP, AX y AX-CLV, y por tanto se consideraron como no alérgicos; 15 tuvieron una buena tolerancia a BP y desarrollaron una reacción inmediata a AX y por tanto fueron considerados alérgicos a AX; y 7 tuvieron una buena tolerancia a BP y AX y desarrollaron una reacción inmediata tras la administración de AX-CLV, y por tanto se consideraron alérgicos al ácido clavulánico.

50 Aquellos que fueron positivos a la prueba cutánea (N=55) fueron sometidos a más análisis. 25 fueron pacientes del sexo femenino, y 30 del masculino; la edad media fue de 43,27 años (rango: 18-67); el tiempo medio entre la reacción alérgica y el estudio alergológico fue de 6,09 meses (rango: 1-46), 44 tuvieron anafilaxis y 11 urticaria. Fueron clasificados en diferentes grupos, de acuerdo con la positividad de la prueba cutánea: Grupo A, pacientes con prueba cutánea positiva a los determinantes mayores y menores de BP; Grupo B, pacientes con prueba cutánea negativa a los determinantes mayores y menores de BP, buena tolerancia a BP por DPT y prueba cutánea positiva para AX; Grupo C, pacientes con una prueba cutánea negativa a los determinantes mayores y menores de BP y AX, buena tolerancia por DPT a BP y AX, y prueba cutánea positiva al ácido clavulánico.

60 El Grupo A incluyó 5 casos (9%), tres del sexo femenino y dos del masculino, y la media de edad fue de 55,6 años (rango: 47-63); dos desarrollaron urticaria y tres anafilaxis, y el tiempo de intervalo medio entre la reacción y el estudio fue de 6,2 meses (rango 1-18). El Grupo B incluyó 34 pacientes (62%), 13 del sexo femenino y 21 del masculino, la media de edad fue de 44,7 años (rango: 18-67); 5 desarrollaron urticaria y 29 anafilaxis, y el tiempo de intervalo medio entre la reacción y el estudio fue de 5,7 meses (rango 1-46). El Grupo C incluyó 16 pacientes (29%), 7 del sexo femenino y 9 del masculino, la media de edad fue de 36,4 años (rango: 18-59); 3 desarrollaron urticaria y 13 anafilaxis, y el tiempo de intervalo medio entre la reacción y el estudio fue de 6,9 meses (rango 1-22). En este grupo también se llevó a cabo la prueba cutánea testando AX-CLV y fue positivo en 10 casos (Fig. 2). Las comparaciones entre los tres grupos de edad e intervalo de tiempo entre la reacción y el estudio mostraron diferencias significativas por edad ( $P < 0,005$ ), siendo los pacientes del Grupo A los mayores, y los pacientes del Grupo C los más jóvenes. Los intervalos de tiempo entre la reacción y el estudio no mostraron diferencias significativas entre los tres grupos.

Se realizó el BAT en los 55 pacientes, y fue positivo en 29 (52,7%), 3 casos en el Grupo A, 18 en el Grupo B, y 8 en el Grupo C. Los valores de SI medios en los casos positivos para cada grupo se muestran en la Fig. 3. En los pacientes del Grupo A, BAT fue positivo para BP, AX y AX-CLV, pero no para el ácido clavulánico; en los pacientes del grupo B, BAT fue positivo para AX y AX-CLV, pero negativo para BP y ácido clavulánico; y en los pacientes del Grupo C, fue positivo para el ácido clavulánico y AX-CLV. Cuando se compararon los resultados BAT para el ácido clavulánico Y AX-CLV, a las mismas concentraciones de ácido clavulánico (Fig. 4), se confirmó que todos los pacientes del Grupo B fueron negativos para el ácido clavulánico, mientras que para el Grupo C la respuesta BAT fue similar tanto para la combinación de AX-CLV como para el ácido clavulánico únicamente. Se realizó también el BAT en el grupo control con una prueba cutánea negativa a los determinantes de la penicilina, con buena especificidad, 90% para BP y 86,6% para AX, AX-CLV y ácido clavulánico.

Se confirmó que los resultados BAT indicaban que se trataba de una respuesta mediada IgE mediante el empleo del inhibidor de PI3K, wortmanina, que inhibe el BAT cuando es estimulado con anti-IgE y con haptenos, especialmente aquellos que mostraron resultados BAT positivos, pero no cuando se usó fMLP como estimulador basófilo (Fig. 5).

Aunque el ácido clavulánico tiene un anillo de betalactama con capacidad para unirse covalentemente a las proteínas, tiene importantes diferencias químicas con las penicilinas; carece de la cadena lateral y el anillo de tiazolidina ha sido sustituido por una oxazolidina (Fig. 1). Estas diferencias deben contribuir a la generación de determinantes antigénicos con baja o nula reactividad cruzada con aquellos generados por BP ó AX. Más aún, el metabolismo del ácido clavulánico es completamente diferente del de las penicilinas, dando lugar a varios productos que no se encuentran químicamente relacionados con los derivados de BP (Haginaka *et al.*, 1985. *Chem Pharm Bull* 33:218-44.). Más aún, el ácido clavulánico ha sido inicialmente considerado como de un muy bajo potencial inmunogénico, probablemente porque su reacción con grupos amino de proteínas produce varios determinantes haptenos (Edwards *et al.*, 1988. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 85:184-9.).

En este estudio, se confirmó que el 20% de los pacientes evaluados habían tenido una reacción alérgica inmediata al AX-CLV con una prueba cutánea positiva para uno o más de los reactivos empleados. Se encontró que sólo el 9% (Grupo A) reconocía los determinantes de BP. Puesto que la droga responsable de la reacción en este grupo era AX-CLV y el test cutáneo fue positivo para diferentes determinantes de la penicilina, esto se considera como un grupo que reacciona de forma cruzada respondiendo a los determinantes de penicilina. Estos datos están en concordancia con los estudios previos e indican que la sensibilización a estos determinantes tiende a decrecer, como corresponde a un principio activo que se prescribe mucho menos que AX y AX-AX-CLV en la actualidad y desde hace muchos años (Blanca *et al.*, 1990. *Clin Exp Allergy* 20:475-481; Torres *et al.*, 2001. *Allergy* 56:850-856; Bousquet *et al.*, 2005. *J Allergy Clin Immunol* 115:1314-1316). Como se ha descrito previamente, un porcentaje importante de pacientes (62%) reconocieron los determinantes de AX, indicando que este hapteno continua siendo la penicilina más frecuentemente involucrada en la sensibilización (Torres *et al.*, 2001. *Allergy* 56:850-856, Bousquet *et al.*, 2005. *J Allergy Clin Immunol* 115:1314-1316; Bousquet *et al.*, 2008. *Clin Exp Allergy* 38:185-90; Ponvert *et al.*, 2007. *Allergy* 62:42-6; Abuaf *et al.*, 2008. *Clin Exp Allergy* 38:921-8). Notar que aunque el 30% de los pacientes dieron positivo para la prueba cutánea al ácido clavulánico y tuvo buena tolerancia al AX, sólo el 18% se detectó por AX-CLV. Puesto que la sensibilidad a los determinantes de las betalactamas depende de las concentraciones, esas diferencias se deben a las concentraciones de ácido clavulánico empleadas (20 mg/mL cuando se emplea solo frente a 4 mg/mL cuando se usa AX-CLV). Puesto que el AX-CLV es con diferencia el reactivo disponible para las pruebas cutáneas, esto debe explicar por qué no se han comunicado más reacciones con pruebas cutáneas positivas al ácido clavulánico. Considerando estos hallazgos, se recomienda emplear el ácido clavulánico para la evaluación diagnóstica en caso de reacciones inmediatas donde la asociación amoxicilina - ácido clavulánico esta implicada cuando las pruebas cutáneas convencionales con BP y amoxicilina dan negativas. Esto quizá gane importancia en el futuro, puesto que el consumo de amoxicilina - ácido clavulánico es creciente.

(Tabla pasa a página siguiente)

ES 2 357 595 A1

Pac.	Edad	SEXO	INTERVALO meses	REACTION	SKIN TEST				
					PPL	MDM	AX	CLV	AX- CLV
1A	61	F	6	Urticaria	ID(+)	(-)	(-)	(-)	nd
2A	47	F	5	Urticaria	(-)	ID (+)	ID (+)	(-)	nd
3A	63	M	1	Anafilaxis	(-)	P (+)	P (+)	(-)	nd
4A	59	F	1	Anafilaxis	ID(+)	ID(+)	P (+)	(-)	nd
5A	48	M	18	Anafilaxis	(-)	P (+)	P (+)	(-)	nd
6B	49	F	4	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
7B	20	F	2	Urticaria	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
8B	37	M	9	Urticaria	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
9B	55	F	5	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
10B	41	F	7	Urticaria	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
11B	42	M	4	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
12B	52	F	6	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
13B	47	F	5	Anafilaxis	(-)	(-)	P (+)	(-)	nd
14B	30	M	24	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
15B	46	M	46	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
16B	19	F	12	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
17B	57	M	2	Anafilaxis	(-)	(-)	P (+)	(-)	nd
18B	45	F	4	Urticaria	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
19B	46	M	6	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
20B	31	M	5	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
21B	37	M	4	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
22B	54	M	2	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
23B	38	F	1	Anafilaxis	(-)	(-)	P (+)	(-)	nd
24B	67	M	2	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
25B	46	M	1	Anafilaxis	(-)	(-)	P (+)	(-)	nd
26B	60	F	1	Anafilaxis	(-)	(-)	P (+)	(-)	nd
27B	60	M	1	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
28B	18	M	2	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
29B	47	F	4	Anafilaxis	(-)	(-)	P (+)	(-)	nd
30B	53	M	2	Urticaria	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
31B	36	F	5	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
32B	41	M	4	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
33B	35	M	6	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd

ES 2 357 595 A1

34B	44	F	12	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
35B	47	M	1	Anafilaxis	(-)	(-)	P (+)	(-)	nd
36B	59	M	1	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
37B	55	M	1	Anafilaxis	(-)	(-)	P (+)	(-)	nd
38B	48	M	2	Anafilaxis	(-)	(-)	P (+)	(-)	nd
39B	57	M	1	Anafilaxis	(-)	(-)	ID (+)	(-)	nd
40C	42	F	22	Anafilaxis	(-)	(-)	(-)	ID (+)	ID (+)
41C	26	M	5	Anafilaxis	(-)	(-)	(-)	ID (+)	ID (+)
42C	59	F	4	Anafilaxis	(-)	(-)	(-)	ID (+)	ID (+)
43C	18	M	2	Urticaria	(-)	(-)	(-)	P (+)	ID (+)
44C	35	M	2	Anafilaxis	(-)	(-)	(-)	ID (+)	ID (+)
45C	56	F	12	Urticaria	(-)	(-)	(-)	ID (+)	(-)
46C	42	M	1	Anafilaxis	(-)	(-)	(-)	P (+)	P (+)
47C	30	M	11	Anafilaxis	(-)	(-)	(-)	ID (+)	(-)
48C	30	M	3	Anafilaxis	(-)	(-)	(-)	ID (+)	ID (+)
49C	18	M	1	Anafilaxis	(-)	(-)	(-)	ID (+)	ID (+)
50C	38	F	10	Anafilaxis	(-)	(-)	(-)	ID (+)	(-)
51C	47	F	4	Urticaria	(-)	(-)	(-)	ID (+)	(-)
52C	49	F	1	Anafilaxis	(-)	(-)	(-)	P (+)	P (+)
53C	28	M	7	Anafilaxis	(-)	(-)	(-)	ID (+)	ID (+)
54C	34	M	10	Anafilaxis	(-)	(-)	(-)	ID (+)	(-)
55C	31	F	15	Anafilaxis	(-)	(-)	(-)	ID (+)	(-)

Pac: Paciente PPL: Penicilil-polilisina; MDM: mezcla de determinantes menores; AX: Amoxicilina; CLV: ác. clavulánico; AX-CLV: amoxicilina-clavulánico P: Prick; ID: Intradérmico; nd: no realizado.

## ES 2 357 595 A1

### REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición que comprende como único principio activo el ácido clavulánico, o cualquiera de sus sales, profármacos, derivados, análogos o cualquiera de sus combinaciones, en una concentración superior a 10 mg/mL.
2. La composición según la reivindicación anterior, donde la concentración del ácido clavulánico se encuentra entre 15 mg/mL y 25 mg/mL.
- 10 3. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-2, donde la concentración del ácido clavulánico se encuentra entre 18 mg/mL y 22 mg/mL.
4. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, donde la concentración del ácido clavulánico es de 20 mg/mL.
- 15 5. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que además contiene un excipiente farmacéuticamente aceptable.
6. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-4, que además contiene un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 20 7. Uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para la elaboración de un medicamento para el diagnóstico de la alergia al ácido clavulánico.
- 25 8. Uso de una composición según la reivindicación anterior, donde la composición se administra por vía dérmica.
9. Uso de una composición según la reivindicación 7, donde la composición se administra por vía intradérmica.
- 30 10. Envase primario que contiene una disolución acuosa para administración parenteral, que comprende una composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, cerrándose herméticamente el envase primario con un tapón o pistón de caucho que contiene caucho de bromobutilo.
- 35 11. Envase primario según la reivindicación anterior, en el que el envase primario se selecciona de la lista que comprende: un vial, una botella, un cartucho, una jeringuilla prellenada, o cualquiera de sus combinaciones.
- 40 12. Kit para la identificación o el diagnóstico de individuos alérgicos al ácido clavulánico, que comprende la composición según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, o el envase primario según cualquiera de las reivindicaciones 10-11.

40

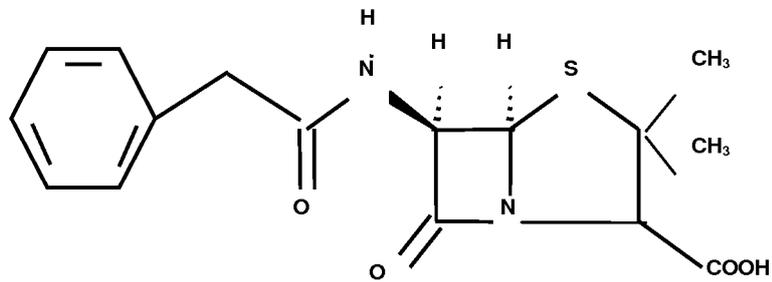
45

50

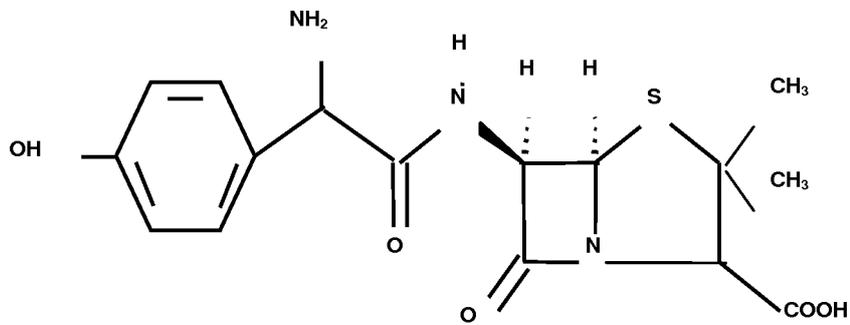
55

60

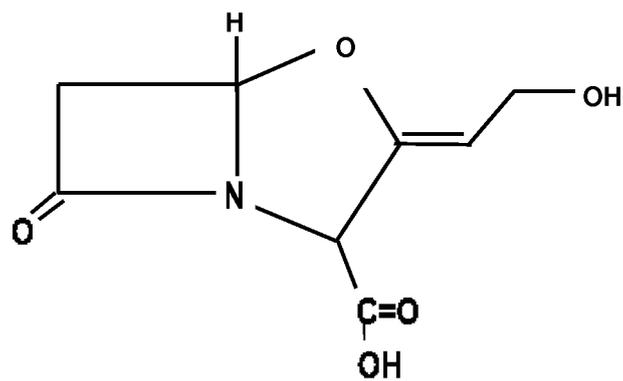
65



(A) BENCILPENICILINA



(B) AMOXICILINA



(C) ÁCIDO CLAVULÁNICO

FIG. 1



FIG. 2

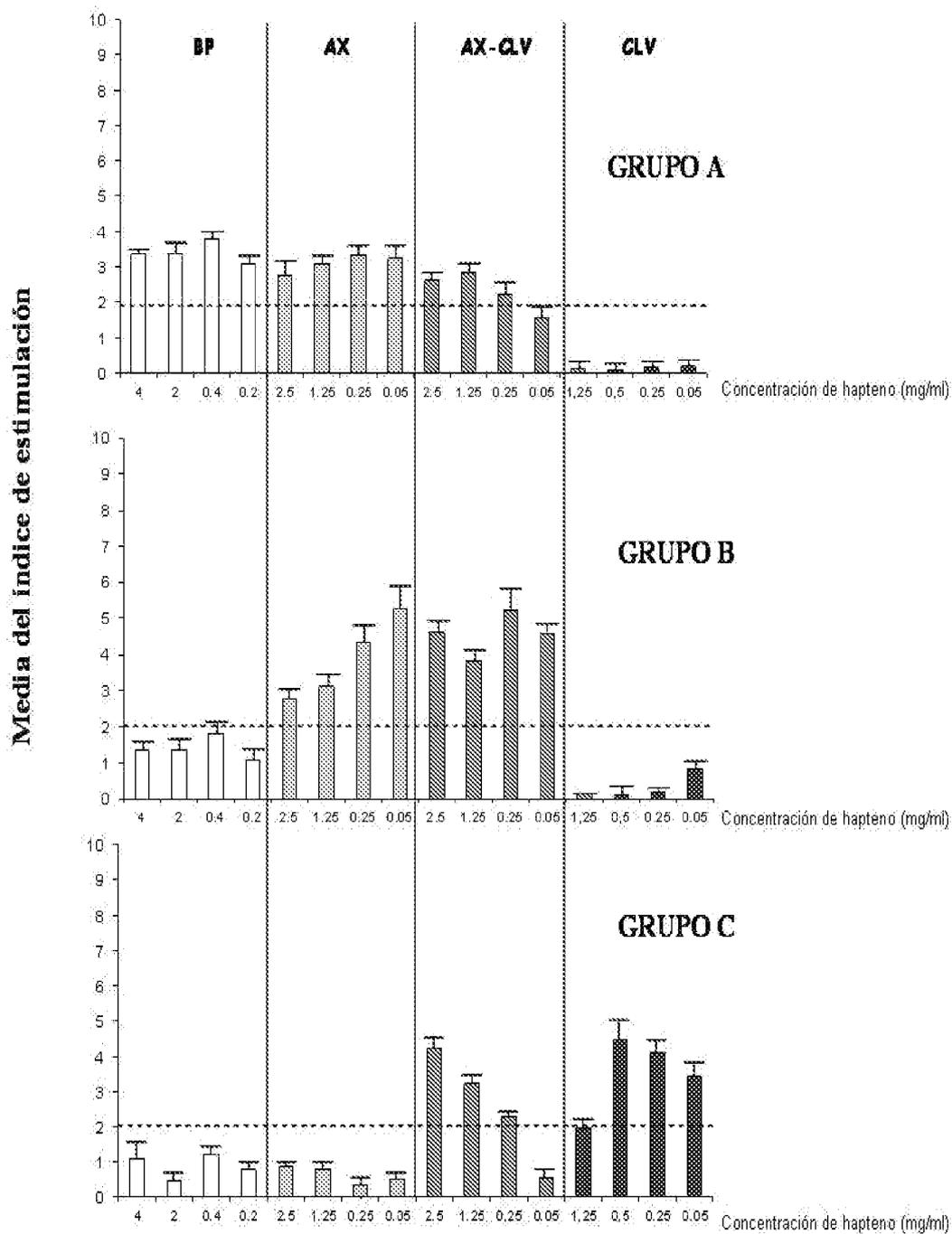


FIG. 3

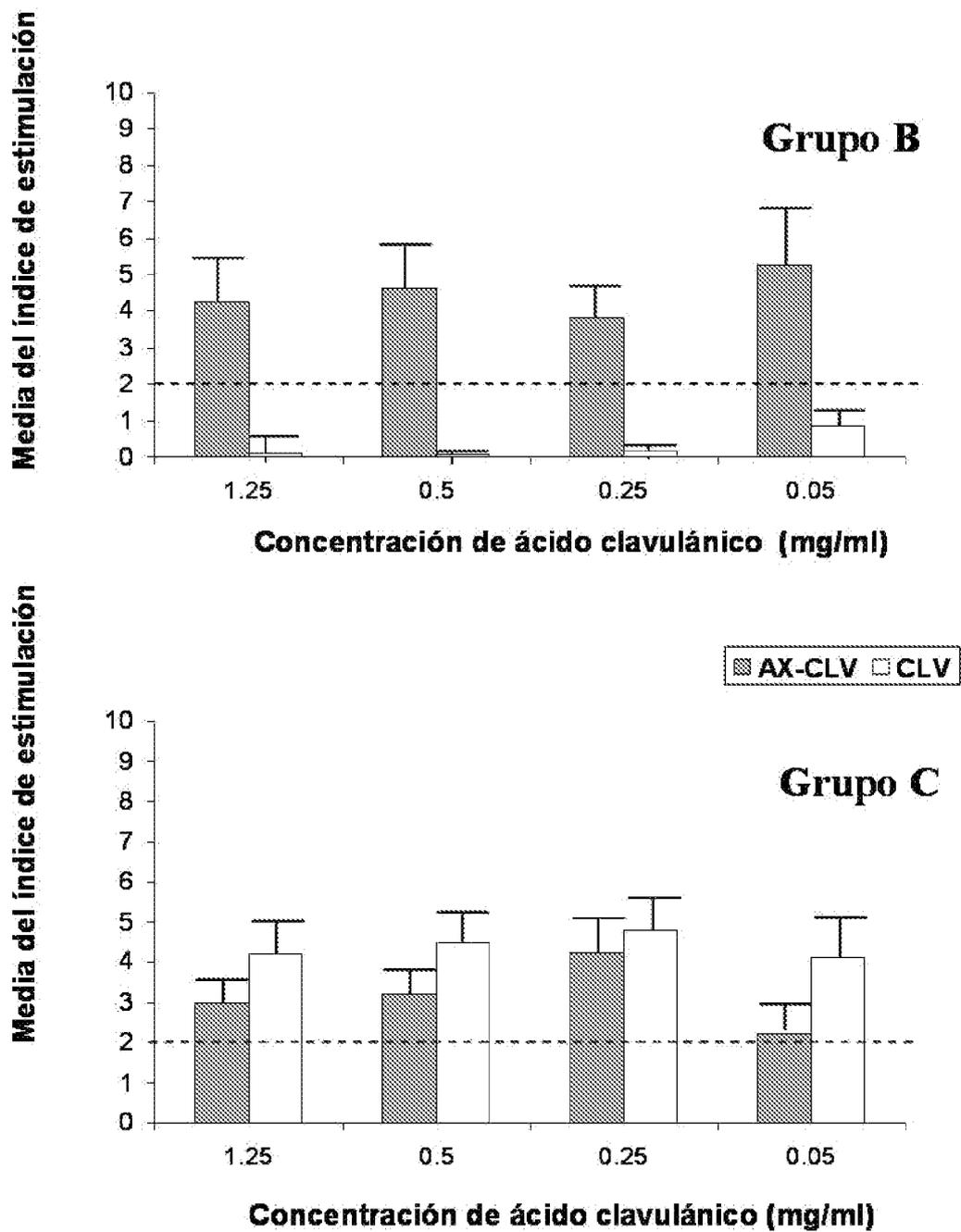


FIG. 4

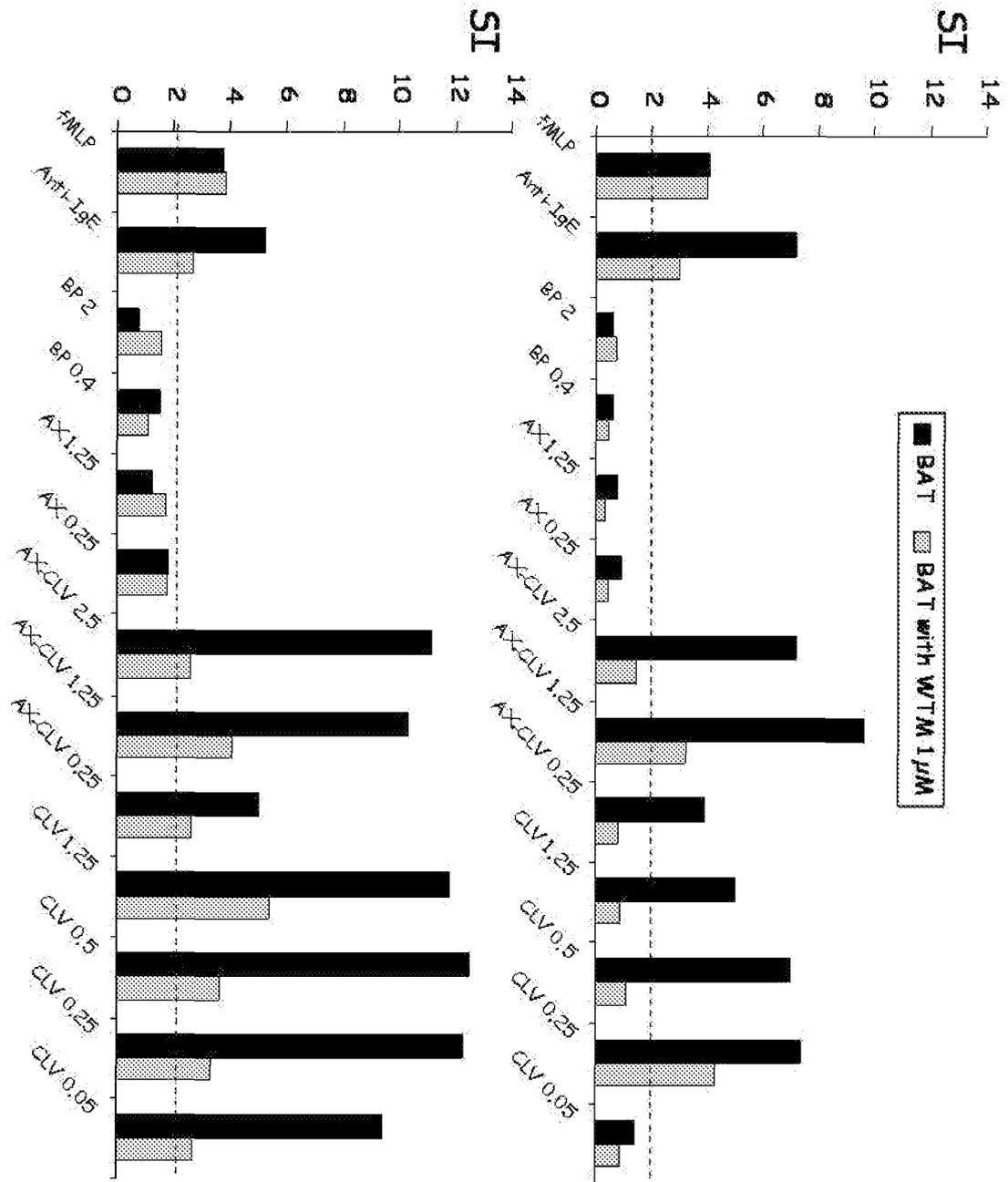


FIG.5



OFICINA ESPAÑOLA  
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 200930781

②② Fecha de presentación de la solicitud: 02.10.2009

③② Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	GB 1508977 A (BEECHAN GROUP LTD.) 26.04.1978, página 3, línea 15 – página 4, línea 25; reivindicaciones 1-48.	1-6,10-12
A	FERNANDEZ-RIVAS, M. y col. Selective allergic reactions to clavulanic acid. The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 1995, Vol. 95, N° 3, páginas 748-50. Página 748, "RESULTS", segundo párrafo; página 749, tabla I.	7-9
A	CAHEN, Y.D. & WÜTHRICH, B. Drug allergy to the $\beta$ -lactam antibiotics clavulanic acid and amoxicillin. Allergy, 1997, Vol. 52, páginas 117-118. Página 117.	7-9
A	YOUNG HOON KIM y col. A case of allergic contact dermatitis to clavulanic acid. Contact Dermatitis. 2008, Vol. 59, páginas 378-379. Todo el documento, tabla 1.	7-9
A	LONGO, N. y col. Diagnosis of clavulanic acid allergy using basophil activation and leukotriene release by basophils. J Investig Allergol Clin Immunol. 2008, Vol. 18, N° 6, página 473-5. Todo el documento.	7-9

#### 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  
16.02.2011

Examinador  
E. Albarrán Gómez

Página  
1/4

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

**G01N33/53** (01.01.2006)

**G01N33/557** (01.01.2006)

**A61K31/424** (01.01.2006)

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

G01N, A61K

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

INVENES, EPODOC, WPI, NCBI, MEDLINE, BIOSIS, EMBASE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 16.02.2011

#### Declaración

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-12	<b>SI</b>
	Reivindicaciones	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones 7-9	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-6, 10-12	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

#### Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

**1. Documentos considerados.-**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	GB 1508977 A (BEECHAN GROUP LTD.) 26.04.1978	
D02	FERNANDEZ-RIVAS, M. y col. Selective allergic reactions to clavulanic acid. The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 1995, Vol. 95, Nº 3, páginas 748-50.	
D03	CAHEN, Y.D. & WÜTHRICH, B. Drug allergy to the $\beta$ -lactam antibiotics clavulanic acid and amoxicillin. Allergy, 1997, Vol. 52, páginas 117-118.	
D04	YOUNG HOON KIM y col. A case of allergic contact dermatitis to clavulanic acid. Contact Dermatitis. 2008, Vol. 59, páginas 378-379.	
D05	LONGO, N. y col. Diagnosis of clavulanic acid allergy using basophil activation and leukotriene release by basophils. J Investig Allergol Clin Immunol. 2008, Vol. 18, Nº 6, página 473-5.	

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

La presente invención se refiere a una composición que comprende como único principio activo ácido clavulánico, o cualquiera de sus sales, o derivados en una concentración superior a 10 mg/ml, utilizándose en una realización particular la concentración de 20 mg/ml. También se refiere al uso de esta composición para la elaboración de un medicamento para el diagnóstico de la alergia al ácido clavulánico en administración dérmica o intradérmica, al envase primario que contiene esta composición y al kit para el diagnóstico de individuos alérgicos al ácido clavulánico que utiliza esta composición.

En la elaboración de este informe se ha obviado el término "profármaco" que aparece tanto en la descripción como en las reivindicaciones, ya que es un término vago e impreciso y deja al lector en duda respecto al significado real de las características técnicas que conlleva.

El documento D01 tiene por objeto una composición farmacéutica que comprende ácido clavulánico o cualquiera de sus sales junto con excipientes farmacéuticamente aceptables.

Aunque se pueda reconocer novedad a las composiciones que contienen como único principio activo ácido clavulánico en concentraciones superiores a 10 mg/ml, no se puede reconocer actividad inventiva a las composiciones de clavulánico que concretan un rango de concentración determinado, ni al envase o kit que contiene las mismas.

En consecuencia, se considera que las reivindicaciones 1 a 6 y 10 a 12 de la presente solicitud carecen de actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986).

Los documentos D02, D03 y D04 describen la utilización en pruebas cutáneas por pinchazo (skin prick test) la utilización de ácido clavulánico en estado puro en concentraciones de 1 mg/ml y 10 mg/ml obtenidos de Beechan en D01 y de SmithKline Beecham AG en D02.

El documento D05 en la prueba in vitro de activación de basófilos por citometría de flujo (BAT) utiliza ácido clavulánico en concentraciones de 0,625 y 0,156 mg/ml.

No se ha encontrado divulgado en el estado de la técnica el uso de una composición que comprende como único principio activo ácido clavulánico, sales o derivados del mismo en concentraciones superiores a 10 mg/ml, en particular 20 mg/ml para el diagnóstico de la alergia al ácido clavulánico. Por lo tanto, se considera que las reivindicaciones 7 a 9 de esta solicitud tienen novedad e implican actividad inventiva (Art. 6.1 y 8.1 LP 11/1986).