



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 368 394**

② Número de solicitud: 201131188

⑤ Int. Cl.:
A61K 35/16 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)
A61K 35/16 (2006.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

② Fecha de presentación: **13.07.2011**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **17.11.2011**

④ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
17.11.2011

⑦ Solicitante/s: **BANC DE SANG I TEIXITS**
Passeig Taulat, 116
08005 Barcelona, ES

⑦ Inventor/es: **Torrabadella de Reynoso, Marta;**
Navarro Martínez-Cantullera, Aurora y
Calatayud Pinuaga, Marta Ángela

⑦ Agente: **Durán Moya, Carlos**

⑤ Título: **Composición que comprende plasma de sangre de cordón umbilical para el tratamiento de patologías de la superficie ocular y procedimiento de obtención de la misma.**

⑤ Resumen:

Composición que comprende plasma de sangre de cordón umbilical para el tratamiento de patologías de la superficie ocular y procedimiento de obtención de la misma. La presente invención se refiere a una composición en forma de colirio que comprende plasma de sangre de cordón umbilical entre un 20% y un 80% (v/v) de plasma diluido en suero salino fisiológico, a su utilización en el tratamiento de diferentes patologías de la superficie ocular en humanos. Además, la presente invención se refiere al procedimiento de preparación de dicha composición que comprende las etapas de: (a) descongelar plasma de entre 4 y 50 donantes para formar un "pool" de plasma; (b) inactivar e irradiar dicho "pool" de plasma; (c) diluir dicho plasma con suero salino fisiológico, hasta una concentración final de plasma entre 20% y 80% (v/v); y (d) envasar en condiciones estériles.

ES 2 368 394 A1

DESCRIPCIÓN

Composición que comprende plasma de sangre de cordón umbilical para el tratamiento de patologías de la superficie ocular y procedimiento de obtención de la misma.

La presente invención se refiere a una composición en forma de colirio que comprende plasma de sangre de cordón umbilical, a su utilización en el tratamiento de patologías de la superficie ocular en humanos. Además, la presente invención se refiere al procedimiento de preparación de dicha composición.

Entre los tratamientos terapéuticos convencionales para las patologías de la superficie ocular se incluyen la utilización, por ejemplo, de lágrimas artificiales, lentes de contacto terapéuticos, recubrimiento con membrana amniótica, tarsorrafia y factores de crecimiento tópicos. Recientemente se han desarrollado composiciones terapéuticas eficaces en el tratamiento de patologías de la superficie ocular en forma de colirios obtenidos a partir de suero autólogo y suero de sangre de cordón umbilical, así como colirios de plasma rico en plaquetas (PRP).

Desde que se abrió la posibilidad del empleo de la sangre de cordón umbilical para el tratamiento de pacientes que padecen enfermedades congénitas o adquiridas de la médula ósea, tales como las leucemias agudas o crónicas, ha aumentado a nivel mundial el número de personas que de forma altruista donan sangre de cordón umbilical y, por tanto, el número de bancos en los que se almacena de forma segura y controlada dicha sangre.

La sangre de cordón umbilical es colectada en el momento del parto de una manera conocida por un experto en la materia. Tras el nacimiento del niño y después de la sección del cordón umbilical, se realiza una simple punción del cordón umbilical. A continuación, dicha sangre se fracciona mediante centrifugación o filtración, en la que se obtienen dos capas diferenciadas: una capa en la que están presentes elementos formes tales como hematíes, leucocitos y plaquetas, que es el material de partida para el trasplante celular, y otra capa que se denomina plasma, que normalmente se desecha. Este plasma puede ser congelado a una temperatura de -80°C .

La presente invención se basa en el descubrimiento sorprendente de que un colirio obtenido a partir de plasma de sangre proveniente del cordón umbilical, posee un efecto terapéutico eficaz sobre distintas patologías de la superficie ocular en humanos.

El uso de la composición de la presente invención presenta numerosas ventajas con respecto a los tratamientos convencionales. Una ventaja de la utilización del plasma de sangre de cordón umbilical es que, a diferencia de la sangre autóloga, está disponible de inmediato y, además, no requiere la extracción de sangre del paciente, lo que es complicado en ocasiones en el caso de pacientes pediátricos. Tampoco se requiere de un procesado posterior de dicha sangre, que hace que el tiempo de demora entre la prescripción del colirio autólogo y el inicio del tratamiento puede ser de varios días, e incluso semanas.

Otra ventaja adicional del uso del plasma de sangre de cordón umbilical, a diferencia del suero, es que el plasma es rico en factores de crecimiento tales como factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento transformante- β (TGF- β), factor de crecimiento similar a insulina 1 (IGF1), factor de cre-

cimiento nervioso (NGF), así como en vitamina A, fibronectina, sustancia P, antiproteasas tales como la $\alpha 2$ macroglobulina, entre otras. Además, el plasma de sangre de cordón umbilical presenta una concentración elevada de citoquinas antiinflamatorias y factores plasmáticos y plaquetarios que inducen la proliferación, diferenciación, maduración y expansión celular en comparación con el suero autólogo.

Por lo tanto, la presente invención da a conocer una composición farmacéutica en forma de colirio que comprende plasma de sangre de cordón umbilical eficaz para el tratamiento de patologías de la superficie ocular.

La composición de la presente invención se puede preparar de una manera sencilla, en un procedimiento que comprende las siguientes etapas:

(a) descongelar plasma de entre 1 y 50 donantes, formando un "pool" de plasma en caso de que sea de más de 1 donante;

(b) opcionalmente inactivar y/o irradiar dicho plasma o "pool" de plasma;

(c) diluir dicho plasma con cualquier solución salina similar a suero fisiológico, hasta una concentración final de plasma entre 20% y 80% (v/v); y

(d) envasar en condiciones estériles.

La inactivación del plasma se puede realizar mediante azul de metileno o amotosaleno. La irradiación se lleva a cabo con rayos gamma a partir de una fuente de cesio 137, para evitar que los linfocitos viables provoquen alguna reacción adversa.

La concentración final del plasma en el colirio dependerá de aplicación final de la composición de la presente invención.

Entre las patologías de la superficie ocular que se pueden tratar con la composición de la presente invención se encuentran la queratoconjuntivitis neurotrófica por parálisis del trigémino, la úlcera corneal trófica secundaria a diabetes o a queratitis herpética, queratoconjuntivitis por exposición, queratoconjuntivitis seca (Síndrome de Sjögren y no Sjögren), insuficiencia límbica y problemas tróficos corneales (por ejemplo, diabetes, herpes previo), defectos epiteliales persistentes de cualquier etiología, queratoconjuntivitis atópica grave, erosión corneal recidivante, queratoconjuntivitis límbica superior, tratamiento postoperatorio en queratoplastia post herpética o por causticación.

La presente invención se describirá a continuación con más detalles en referencia a ejemplos de realización. Estos ejemplos, sin embargo, no están destinados a limitar el alcance técnico de la presente invención.

Ejemplos

Ejemplo 1

Preparación de un colirio que comprende plasma de cordón umbilical al 20% para el tratamiento de patología de la superficie ocular. Se obtuvo sangre de cordón umbilical y se envasó en una bolsa estéril con anticoagulante (CDP) y se conservó en fresco (entre 2 y 22°C). El tiempo entre la obtención de la sangre de cordón umbilical y la preparación del colirio fue entre 12 y 44 horas.

La sangre de cordón umbilical se centrifugó a 1730 xg durante 10 minutos a 22°C. A continuación se separó el plasma mediante prensa extractora y se tomó una muestra de 2-3 mL para a estudio serológico, que comprendía los ensayos de antígeno de superficie de hepatitis B, anticuerpos anti hepatitis B core, anti-

cuerpos anti hepatitis C, anticuerpos anti VIH 1/2, anticuerpos anti *Treponema pallidum*, RNA VHC, RNA VIH1, DNA VHB per NAT, anticuerpos anti HTLV I/II, y anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi*.

La bolsa que contiene el plasma se pesa y se añade PBS mediante punzón para obtener una concentración final de plasma de cordón umbilical del 20%. A continuación, el volumen total obtenido se añade en recipientes estériles en alícuotas de 5 mL y dichos recipientes se cierran herméticamente y se codifican.

El colirio preparado se pone en cuarentena y se libera una vez obtenido los resultados de los ensayos

siguientes: serología materna negativa, aunque se admite positividad a anticuerpos anti CMV IgG, serología del plasma de cordón umbilical negativa, microbiología negativa para aerobios, anaerobios y hongos, contenido en leucocitos < 100 y contenido en hemáties < 6000. El colirio preparado tiene una caducidad de 3 años si se almacena a -80°C.

Si bien la invención se ha descrito con respecto a ejemplos de realizaciones preferentes, éstos no se deben considerar limitativos de la invención, que se definirá por la interpretación más amplia de las siguientes reivindicaciones.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica que comprende plasma de sangre de cordón umbilical para utilizar en el tratamiento de patologías de la superficie ocular.

2. Composición farmacéutica que comprende plasma de sangre de cordón umbilical para el uso según la reivindicación 1, **caracterizada** porque dicha composición está en forma de colirio.

3. Composición farmacéutica que comprende plasma de sangre de cordón umbilical para el uso según la reivindicación 1, **caracterizada** porque la concentración de plasma se encuentra entre un 20% y un 80% (v/v).

4. Composición farmacéutica que comprende plasma de sangre de cordón umbilical para el uso según la reivindicación 1, **caracterizada** porque entre las patologías de la superficie ocular a tratar se encuentran la queratoconjuntivitis neurotrófica por parálisis del trigémino, la úlcera corneal trófica secundaria a diabetes o a queratitis herpética, queratoconjuntivitis por exposición, queratoconjuntivitis seca (Síndrome de Sjögren y no Sjögren), insuficiencia límbica y problemas tróficos corneales (por ejemplo, diabetes, herpes previo), defectos epiteliales persistentes de

cualquier etiología, queratoconjuntivitis atópica grave, erosión corneal recidivante, queratoconjuntivitis límbica superior, tratamiento postoperatorio en queratoplastia post herpética o por causticación.

5. Procedimiento de preparación de una farmacéutica que comprende plasma de sangre de cordón umbilical para utilizar en el tratamiento de patologías de la superficie ocular que comprende las etapas de:

(a) descongelar plasma de entre 1 y 50 donantes, formando un "pool" de plasma en caso de que sea de más de 1 donante;

(b) opcionalmente inactivar y/o irradiar dicho plasma o "pool" de plasma;

(c) diluir dicho plasma con cualquier solución salina similar a suero fisiológico, hasta una concentración final de plasma entre 20% y 80% (v/v); y

(d) envasar en condiciones estériles.

6. Procedimiento, según la reivindicación 5, **caracterizado** porque la etapa opcional de inactivación del plasma se realiza con azul de metileno o amotosaleno.

7. Procedimiento, según la reivindicación 5 ó 6, **caracterizado** porque la etapa opcional de irradiación se lleva a cabo con rayos gamma a partir de una fuente de cesio 137.

30

35

40

45

50

55

60

65



②① N.º solicitud: 201131188

②② Fecha de presentación de la solicitud: 13.07.2011

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	WO 2006015214 A2 (STEEN-BLOCK RESEARCH INSTITUTE, INC.) 09.02.2006, reivindicación 1,8; página 2, párrafo 4.	1
X	SHARMA, S. y col. Evaluation of Umbilical Cord Serum Therapy in Acute Ocular Chemical Burns. Investigative Ophthalmology & Visual Science. Febrero 2011, Vol. 52, Nº 2, páginas 1087-1092. Todo el documento, en especial página 1087; página 1088, párrafo: "Umbilical Cord Serum and Autologous Serum: Collection, Preparation and Storage".	2-7
X	VAJPAYEE, R. B. y col. Evaluation of umbilical cord serum therapy for persistent corneal epithelial defects. British Journal of Ophthalmology. 2003, Vol. 87, Nº 11, páginas 1312-1316. Todo el documento en especial página 1312; 1313, párrafo: "Patients and methods".	2-7
X	YOON, KYUNG-CHUL y col. Comparison of Autologous Serum and Umbilical Cord Serum Eye Drops for Dry Eye Syndrome. American Journal of Ophthalmology. Julio 2007, Vol. 144, Nº 1, páginas 86-92.e2. Todo el documento en especial "Methods".	2-7
X	YOON, KYUNG-CHUL y col. Application of Umbilical Cord Serum Eyedrops for the Treatment of Neurotrophic Keratitis. Ophthalmology, 2007, Vol. 114, Nº 9, páginas 114-1637. Todo el documento en especial página 1638, párrafo "Umbilical Cord Serum Eyedrop preparation and its Application".	2-7
X	YOON, KYUNG-CHUL y col. Therapeutic effect of umbilical cord serum eyedrops for the treatment of dry eye associated with graft-versus-host disease. Bone Marrow Transplantation, 2007, Vol. 39, páginas 231-235. Todo el documento en especial "Patients and methods".	2-7
A	HARTWIG, D. y col. Topical treatment of ocular surface defects: comparison of the epitheliotropic capacity of fresh frozen plasma and serum on corneal epithelial cells in an in vitro cell culture model. Transfusion Medicine. 2005, Vol. 15, Nº 2, páginas 107-113. Todo el documento.	1-7

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

26.10.2011

Examinador

E. Albarrán Gómez

Página

1/5

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K35/16 (2006.01)

A61P27/02 (2006.01)

A61K35/16 (2006.01)

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)

INVENES, EPODOC, PUBMED, MESH, WPI, EMBASE, BIOSIS, MEDLINE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 26.10.2011

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 2-7	SI
	Reivindicaciones 1	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-7	NO

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	WO 2006015214 A2 (STEEN-BLOCK RESEARCH INSTITUTE, INC.)	09.02.2006
D02	SHARMA, S. y col. Evaluation of Umbilical Cord Serum Therapy in Acute Ocular Chemical Burns. Investigative Ophthalmology & Visual Science. Febrero 2011, Vol. 52, Nº 2, páginas 1087-1092.	
D03	VAJPAYEE, R. B. y col. Evaluation of umbilical cord serum therapy for persistent corneal epithelial defects. British Journal of Ophthalmology. 2003, Vol. 87, Nº 11, páginas 1312-1316.	
D04	YOON, KYUNG-CHUL y col. Comparison of Autologous Serum and Umbilical Cord Serum Eye Drops for Dry Eye Syndrome. American Journal of Ophthalmology. Julio 2007, Vol. 144, Nº 1, páginas 86-92.e2.	
D05	YOON, KYUNG-CHUL y col. Application of Umbilical Cord Serum Eyedrops for the Treatment of Neurotrophic Keratitis. Ophthalmology, 2007, Vol. 114, Nº 9, páginas 114-1637.	
D06	YOON, KYUNG-CHUL y col. Therapeutic effect of umbilical cord serum eyedrops for the treatment of dry eye associated with graft-versus-host disease. Bone Marrow Transplantation, 2007, Vol. 39, páginas 231-235.	
D07	HARTWIG, D. y col. Topical treatment of ocular surface defects: comparison of the epitheliotropic capacity of fresh frozen plasma and serum on corneal epithelial cells in an in vitro cell culture model. Transfusion Medicine. 2005, Vol. 15, Nº 2, páginas 107-113.	

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 farmacéutica que comprende plasma de sangre de cordón umbilical para utilizar en el tratamiento de diferentes patologías de la superficie ocular. Esta composición farmacéutica se presenta en forma de colirio en una concentración que oscila entre 20% - 80%. La invención también tiene por objeto la preparación de dicha composición que comprende los pasos de descongelar el plasma, opcionalmente inactivación del mismo con azul de metileno o amotosaleno, dilución con suero fisiológico y envasar en condiciones estériles.

Se llama la atención del solicitante sobre el hecho de que en la solicitud no se aporta información de cómo se obtiene el plasma de sangre de cordón umbilical; el procedimiento descrito comienza con el paso de descongelación del plasma.

El documento D01 se refiere a un método de tratamiento de una enfermedad neurológica que comprende la administración de una composición que incluye células madre de cordón umbilical; se menciona que dicha composición pueda incluir plasma de cordón umbilical (reivindicación 8).

A la luz del documento D01 del estado de la técnica y teniendo en cuenta que el uso al que se destina la composición farmacéutica de la reivindicación 1 de la presente solicitud no es limitante, se considera que la dicha reivindicación carece de novedad (Art. 6.1 LP 11/1986).

El documento D02 divulga un estudio en el que se evalúa el tratamiento de quemaduras oculares químicas con suero de cordón umbilical. Los autores concluyen que la terapia de este tipo de quemaduras con suero de cordón umbilical es más efectiva que con suero autólogo o con lágrimas artificiales. Esta eficacia puede ser atribuida a la mayor concentración de factores de crecimiento en el suero de cordón umbilical comparado con suero autólogo. En el documento se describe la obtención de suero de cordón umbilical que comienza con la extracción de sangre de la vena umbilical, sin la adición de anticoagulantes se deja coagular la sangre, se centrifuga a 1800g durante 10 minutos y se diluye al 20% con solución salina. La muestra se somete a un análisis espectrofotométrico para detectar la presencia de células rojas lisadas. Las muestras cerradas se mantienen a -20 °C y abiertas se conservan a 4°C durante 7 días. También se realiza un cultivo bacteriológico y fúngico para la detección de posibles contaminantes.

El documento D03 divulga que el suero de cordón umbilical promueve la curación rápida de los defectos epiteliales persistentes de la córnea en comparación con el suero autólogo. En este documento se describe un procedimiento de obtención del plasma de cordón umbilical muy semejante al descrito en D02, siendo la velocidad de centrifugación 1500 rpm y el tiempo 5 minutos.

El documento D04 divulga un estudio en el que se compara el efecto terapéutico de suero autólogo y suero de cordón umbilical como colirio en el tratamiento del síndrome de ojo seco severo. Como conclusión del estudio los autores señalan la mayor efectividad del colirio de suero de cordón umbilical. El documento también describe el método de obtención de este suero de forma semejante al descrito en D02 y D03, siendo la velocidad de centrifugación 3000g y el tiempo de centrifugación 15 minutos.

El documento D05 divulga la aplicación de un colirio de suero de cordón umbilical en el tratamiento de queratitis neurotrófica, una enfermedad corneal degenerativa debida a daño en la inervación del trigémino corneal. El procedimiento de obtención del colirio es idéntico al descrito en D04.

El documento D06 divulga el efecto terapéutico de colirio de suero de cordón umbilical en el tratamiento de ojo seco asociado a la enfermedad de injerto contra huésped (EICH). El procedimiento de obtención del colirio es idéntico al descrito en D04 y D05.

El documento D07 se refiere a un estudio en el que se compara plasma fresco congelado y suero, investigando la composición en factores epiteliotróficos de los mismos y su efecto en células epiteliales de la córnea. Los resultados de este estudio muestran que el suero contiene cantidades significativamente superiores de EGF, TGF-beta1, PDGF y vitamina A, mientras que las concentraciones de fibronectina fueron semejantes en plasma y suero. También el suero mostró ser superior en estimulación de crecimiento celular, migración y diferenciación de las células epiteliales de la córnea utilizadas en el estudio.

En base a los documentos de la técnica D02 a D06, se considera que la composición farmacéutica que comprende plasma de sangre de cordón umbilical útil en el tratamiento de patologías de la superficie ocular, así como su procedimiento de preparación recogidos en las reivindicaciones 2 a 5 de la presente solicitud carecen de actividad inventiva (Art. 8.1. LP 11/1986).

En relación a la etapa opcional de inactivación de plasma mediante azul de metileno o amotosaleno o irradiación con rayos gamma, recogida en las reivindicaciones 6 y 7, se considera que forma parte de la práctica rutinaria del experto en la materia de cara a alcanzar el efecto deseado.

Por lo tanto se considera que las reivindicaciones 6 y 7 de la presente solicitud carecen de actividad inventiva (Art. 8.1. LP 11/1986).