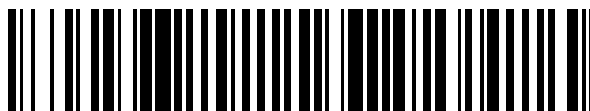


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 401 575**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/22** (2006.01)  
**A61K 47/32** (2006.01)  
**A61K 47/36** (2006.01)  
**A61K 47/38** (2006.01)  
**A61P 1/02** (2006.01)  
**A61K 9/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.04.2003 E 03715700 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.12.2012 EP 1498135**

54 Título: **Preparación viscosa para uso dental que contiene factor de crecimiento de fibroblastos básico**

30 Prioridad:

**01.04.2002 JP 2002098977**

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

**22.04.2013**

73 Titular/es:

**KAKEN PHARMACEUTICAL CO., LTD. (100.0%)  
28-8, HONKOMAGOME 2-CHOME, BUNKYO-KU  
TOKYO 113-8650, JP**

72 Inventor/es:

**FUKUNAGA, KAZUHIRO  
OGATA, YUJI,  
FURUKAWA, AKIHIKO y  
KONNO, YOSHIHIRO**

74 Agente/Representante:

**FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás**

**ES 2 401 575 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 viscosa para uso dental que contiene factor de crecimiento de fibroblastos básico

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a una preparación viscosa para uso dental que contiene factor de crecimiento de fibroblastos básico y que puede usarse para el tratamiento de diversos tipos de enfermedades periodontales tales como periodontosis, etc.

10

**Técnica anterior**

El bFGF, es decir, el factor de crecimiento de fibroblastos básico, se ha encontrado como una proteína que promueve notablemente el crecimiento de fibroblastos. Tras esto, se ha aclarado *in vitro* que no sólo promueve el crecimiento de fibroblastos, sino que también tiene acciones que promueven la proliferación, migración o diferenciación de diversas células tales como células endoteliales vasculares, células de músculo liso vascular, células epiteliales, etc. Además, se ha aclarado que tiene una vascularización potente *in vivo*. Puesto que el bFGF tiene una acción farmacológica de este tipo, se ha desarrollado como agente de tratamiento para úlcera cutánea resistente al tratamiento, cuyos efectos y seguridad de tratamiento excelentes se confirman en estudios clínicos, y ahora está disponible comercialmente. El bFGF también muestra una acción eficaz en tejido óseo y promueve la consolidación de fracturas. Además, se ha previsto para aplicaciones clínicas para diversas enfermedades óseas que se requiere que provoquen osteogénesis, incluyendo las fracturas, como un promotor de osteogénesis de nuevo tipo que induce la formación de un tejido óseo en una parte local a la que se administra. Cuando se administra bFGF a una parte de defecto de periodonto, se ha aclarado además que promueve la formación ósea alveolar (densidad ósea, zona ósea alveolar, zona trabecular ósea) y promueve la cementogénesis y regeneración de un ligamento periodontal en una superficie expuesta de la raíz del diente, mediante lo cual puede regenerarse un periodonto con buen equilibrio. A partir de este hecho, se ha admitido que es eficaz para obtener curado por regeneración, o curado por nueva unión, que es un objetivo final para el tratamiento de la periodontosis. Además, se ha considerado que es útil para el tratamiento de diversos tipos de enfermedades periodontales tales como reparar el periodonto tras la extracción de un diente y tras la extracción de un quiste o un cáncer de la cavidad oral, para el progreso de la fijación de un material de implante, para la regeneración de dentina removida por caries dental y similares. De éstos, se ha estudiado aplicar a periodontosis que es un defecto de tejido crónico (documento WO95/05840)

Por otro lado, se desea administrar directamente el bFGF sólo a la parte afectada en la que se requiere la acción del bFGF cuando se está teniendo en cuenta el hecho de que el bFGF tiene acciones farmacológicas diversas y potentes. Para aplicar el bFGF a diversas enfermedades con una buena eficacia, se requiere un plan de preparación adecuado para las respectivas enfermedades. De hecho, se optimiza una preparación de manera que una preparación de pulverización es para una úlcera cutánea resistente al tratamiento, una preparación en gel es para enfermedades óseas y similares. Sin embargo, hasta ahora aún no se ha desarrollado una preparación de bFGF útil que pueda aplicarse directamente a diversos tipos de enfermedades periodontales tales como periodontosis, etc. con una buena eficacia.

Por otro lado, como preparación para uso dental, generalmente se han conocido una pasta, un agente líquido, una pomada, un agente en gel, etc. Sin embargo, el bFGF es fisicoquímicamente inestable y una dosis eficaz es una cantidad baja, de modo que se restringen la forma del agente o las condiciones de preparación, en particular, se ha considerado que sería difícil el desarrollo de una pasta o una pomada. Por otro lado, se ha considerado que puede desarrollarse que un agente líquido y un agente en gel que contengan cada uno bFGF obteniendo una preparación que es del tipo que se prepara en el momento de su uso. En aplicaciones clínicas del bFGF para diversos tipos de enfermedades periodontales, particularmente para el tratamiento de la periodontosis, en el momento de una operación de colgajo (una operación en la que se abre la encía y se eliminan sarro, etc.), puede esperarse administrarlo en la encía mientras se espera la regeneración del hueso alveolar. Sin embargo, en un agente líquido, la preparación no puede permanecer durante un periodo de tiempo suficiente en la parte afectada debido al goteo del líquido cuando se administra a la parte de mandíbula superior, de modo que se teme que la preparación no pueda administrarse a la parte afectada con una buena eficacia. Por tanto, como preparación que complementa los defectos anteriores, puede considerarse una preparación en gel en estado gelatinoso. No puede decirse que la preparación en gel sea una forma de preparación preferida para la aplicación uniforme de un agente farmacéutico con un bajo contenido sobre la parte afectada que comprende diversas formas de manera cuantitativa. En particular, en el caso de la preparación en gel, puede esperarse que cuando un material de base ha permanecido en la parte afectada durante un largo periodo de tiempo, inhibe la reparación de un tejido, y además, puede esperarse que un paciente se quejará de una sensación desagradable por la sustancia extraña. Por tanto, se requiere que el material de base sea un material muy funcional que desaparezca o se descomponga rápidamente dentro de un determinado periodo de tiempo tras permanecer en la parte afectada tras su administración. Sin embargo, un material de base de este tipo tiene el defecto de que es caro. El documento EP 0 702 959 y Tabeta *et al.*, Tissue Engineering 5(2), 1999, 127-138 describen preparaciones en gel de gelatina reticulada que contienen bFGF. El uso de bFGF como principio activo para tratar enfermedades periodontales se describe en los documentos JP 7017876 y EP 0 677 294.

65

Por consiguiente, para desarrollar el bFGF como agente de tratamiento para diversos tipos de enfermedades periodontales tales como periodontitis, etc., se desea que el bFGF se mantenga de manera estable y que el bFGF con un bajo contenido pueda recubrirse sobre la parte afectada que tiene un área pequeña mientras que impide el goteo de líquido con diversas formas uniformemente. Además, se ha deseado desarrollar una preparación para uso dental que se descomponga o desaparezca rápidamente tras permanecer en un grado que no impida la reparación de un tejido tras su aplicación, que pueda recubrirse con una buena eficacia y que comprenda materiales baratos.

Los inventores de la presente solicitud han estudiado seriamente resolver los problemas mencionados anteriormente y como resultado, han encontrado que bFGF se formula con un espesante que puede mantener una determinada viscosidad cuando se obtiene una disolución para obtener una preparación viscosa, mediante lo cual el bFGF puede mantenerse de manera estable, puede recubrirse uniformemente bFGF con un bajo contenido con una cantidad cuantitativa sobre una parte que va a tratarse que tiene diversas formas, mediante lo cual puede obtenerse una preparación excelente en permanencia local, para lograr la presente invención.

### 15 Descripción de la invención

La presente invención se refiere a una preparación viscosa para uso dental que contiene un factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) como componente eficaz y además un espesante tal como se define en la reivindicación 1.

En la preparación viscosa para uso dental de la presente invención, formulando un espesante tal como se define en la reivindicación 1, que tiene una determinada viscosidad, se garantizan una viscosidad adecuada y una retención local de la preparación viscosa, mediante lo cual puede garantizarse más la administración de un bFGF a una parte que va a tratarse.

La presente invención también se refiere a un kit para preparar la preparación viscosa para uso dental de la presente invención, que contiene un bFGF, un espesante tal como se define en la reivindicación 1 y, si es necesario, un aditivo inactivo y no tóxico y un líquido disolvente, y a un método para preparar la preparación viscosa para uso dental de la presente invención, que comprende disolver un bFGF, un espesante tal como se define en la reivindicación 1 y, si es necesario, un aditivo inactivo y no tóxico, en un líquido disolvente.

### Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es una representación gráfica que muestra una curva de liberación de bFGF de la preparación viscosa para uso dental de la presente invención y una disolución acuosa de bFGF,

la figura 2 es una representación gráfica que muestra una razón restante de bFGF marcado con <sup>125</sup>I en un tejido tras la administración intramuscular de la preparación viscosa para uso dental de la presente invención y una disolución acuosa de bFGF a ratas, y

la figura 3 es una representación gráfica que muestra una razón restante (%) de bFGF marcado con <sup>125</sup>I tras 6 horas de la administración con respecto al tiempo inmediatamente tras la administración cuando se administra la preparación viscosa para uso dental de la presente invención o una disolución acuosa de bFGF a un parte defectuosa de mandíbula de conejo.

### Mejor modo de llevar a cabo la invención

La preparación viscosa para uso dental de la presente invención es una preparación viscosa para uso dental que contiene un bFGF como componente eficaz y que contiene además un espesante tal como se define en la reivindicación 1. La preparación viscosa mencionada en el presente documento significa una preparación que muestra una viscosidad de aproximadamente 20 a 25.000 mPa·s medida a 25°C usando un viscosímetro de tipo E. La preparación viscosa para uso dental de la presente invención tiene preferiblemente una viscosidad de aproximadamente 1.000 a 20.000 mPa·s, de manera particular y preferible de aproximadamente 3.000 a 15.000 mPa·s.

Como bFGF que va a contenerse en la preparación viscosa para uso dental de la presente invención, pueden mencionarse los derivados de mamíferos. Como mamíferos, pueden mencionarse al ser humano, mono, cerdo, vaca, oveja, caballo y similares. Puede obtenerse bFGF mediante el método conocido convencionalmente de estos mamíferos, y bFGF derivado de animales, por ejemplo, bFGF bovino está disponible comercialmente como reactivo de un diverso número de empresas.

Además, como dicho bFGF, pueden usarse los producidos mediante la tecnología de ADN recombinante. Para producir bFGF mediante la tecnología de ADN recombinante, puede usarse por ejemplo, la técnica dada a conocer, por ejemplo, en la publicación de patente japonesa n.º Sho.63-500843. Además, un bFGF humano producido mediante la tecnología de ADN recombinante está disponible comercialmente como reactivo y puede usarse preferiblemente un nombre general: Trafermin (recombinación genética).

Una concentración de bFGF de la preparación viscosa para uso dental de la presente solicitud es, en vista de los efectos sobre las enfermedades periodontales, de manera preferible de aproximadamente el 0,0001 al 20% en peso, de manera más preferible de aproximadamente el 0,001 al 10% en peso, de la manera más preferible de aproximadamente el 0,01 al 1% en peso basado en el peso total de la preparación.

El espesante que va a contenerse en la preparación viscosa para uso dental de la presente invención es un espesante que puede mostrar la viscosidad mencionada anteriormente (aproximadamente de 20 a 25.000 mPa·s) cuando se prepara una disolución, sin ejercer efectos perjudiciales sobre la estabilidad del bFGF, y es farmacéuticamente aceptable. Más específicamente, puede usarse uno seleccionado de hidroxipropilcelulosa, alginato de sodio, alginato de propilenglicol, polímero de carboxivinilo, carmelosa sódica, ácido hialurónico, hialuronato de sodio, hidroxietilcelulosa, hidroxietilmetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, poli(ácido acrílico), poli(acrilato de sodio), producto parcialmente neutralizado de poli(ácido acrílico), poli(alcohol vinílico), metilcelulosa, goma xantana, ácido condroitin-sulfúrico y condroitin-sulfato de sodio, etc.. De estos, cuando se considera el efecto de bFGF sobre la estabilidad, se usan preferiblemente hidroxipropilcelulosa (HPC), hialuronato de sodio, goma xantana y condroitin-sulfato de sodio, y se usa particular y preferiblemente hidroxipropilcelulosa.

Además de estos espesantes, puede usarse un espesante tal como goma arábica, polvo de goma arábica, goma de guayaco, glucono- $\delta$ -lactona, gelatina, dextrano 70, dextrina, goma tragacanto, polvo de goma tragacanto, povidona, jarabe de almidón, colofonia, polioxietileno (160)-polioxipropilenglicol (30), polioxietileno (200)-polioxipropilenglicol (70) y un copolímero de metil vinil éter y anhídrido maleico.

En la preparación viscosa para uso dental de la presente invención, una hidroxipropilcelulosa particular y preferiblemente usada como espesante es un derivado de hidroxipropil éter de celulosa, siendo preferidos los que contienen del 53,4 al 77,5% de un grupo hidroxipropilo (edición catorce D de la farmacopea japonesa) cuando se determina un material seco. Cuando se disuelve HPC en agua, se convierte en un líquido viscoso, puede usarse cualquier HPC que muestre una viscosidad de aproximadamente 20 a 25.000 mPa·s cuando se obtiene una disolución acuosa y puede medirse la viscosidad a 25°C usando un viscosímetro de tipo E y que tiene un peso molecular opcional, con una concentración que muestre la viscosidad mencionada anteriormente. Sin embargo, puede usarse preferiblemente la que tiene un peso molecular de aproximadamente 100.000 a 500.000 que muestra una propiedad espesante alta con una baja concentración, y más preferiblemente la que tiene de 110.000 a 400.000. Por ejemplo, cuando se usa HPC con un peso molecular de aproximadamente 110.000 a 150.000, puede usarse preferiblemente HPC-M disponible de NIPPON SODA CO., LTD. con una razón de aproximadamente el 2 al 18% en peso, más preferiblemente con una razón de aproximadamente el 3 al 10% en peso basado en la preparación completa. Además, cuando se usa HPC con un peso molecular de aproximadamente 250.000 a 400.000, puede usarse preferiblemente HPC-H disponible de NIPPON SODA CO., LTD. con una razón de aproximadamente el 1 al 9% en peso, más preferiblemente con una razón de aproximadamente el 2 al 6% en peso. También es posible usar las HPC que tienen pesos moleculares diferentes en combinación mezclando opcionalmente dentro del intervalo en el que la mezcla logra la viscosidad mencionada anteriormente.

Además, cuando se usa hialuronato de sodio, goma xantana o condroitin-sulfato de sodio como espesante, pueden usarse con una concentración en el intervalo que puede lograr la viscosidad mencionada anteriormente. Por ejemplo, cuando se usa hialuronato de sodio con un peso molecular de aproximadamente 600.000 a 900.000, puede usarse con una concentración de aproximadamente el 1% en peso. Cuando se usa goma xantana con un peso molecular de aproximadamente 2.000.000, puede usarse con una concentración de aproximadamente el 1% en peso. Con respecto a los otros espesantes, pueden usarse con una concentración en el intervalo en el que puedan lograr la viscosidad mencionada anteriormente.

En la preparación viscosa para uso dental de la presente invención, pueden contenerse además diversos tipos de aditivos farmacéuticamente aceptables tales como un azúcar, un controlador de pH, un conservante, un agente quelante, un emulsionante, un agente de suspensión, un estabilizador, un colorante, etc., si es necesario. Como azúcar, puede mencionarse sacarosa, trehalosa, etc., y puede usarse particular y preferiblemente sacarosa. Además, se mantiene de manera deseable el pH de la preparación viscosa para uso dental de la presente invención a de aproximadamente 4,5 a 8, de manera particular a de 4,5 a 6,5, y como controlador de pH para mantener el pH, puede mencionarse un tampón que comprende ácido cítrico y citrato de sodio o ácido acético y acetato de sodio. Como conservante y agente quelante, pueden mencionarse cloruro de benzalconio y edentato de sodio, respectivamente.

La preparación viscosa para uso dental de la presente invención puede prepararse formulando el espesante mencionado anteriormente para bFGF y disolviéndolo en una disolución disolvente para obtener una disolución que tiene una viscosidad predeterminada. Una razón del bFGF basada en la preparación completa es, tal como se mencionó anteriormente, de manera preferible de aproximadamente el 0,0001 al 20% en peso, de manera más preferible de aproximadamente el 0,001 al 10% en peso, de la manera más preferible de aproximadamente el 0,01 al 1% en peso, y el bFGF se formula de manera que llega a tener una razón de este tipo. Además, como disolución disolvente, puede usarse preferiblemente agua. La razón del espesante que va a usarse basada en la preparación completa puede variar dependiendo del tipo del espesante que va a usarse y puede determinarse dentro del

intervalo que muestra una viscosidad de aproximadamente 20 a 25.000 mPa·s en el estado de una disolución. Por ejemplo, cuando se usa como espesante una HPC que tiene un peso molecular de aproximadamente 110.000 a 150.000, el espesante está tan disuelto en la disolución disolvente que llega a tener una razón de aproximadamente el 2 al 18% en peso, preferiblemente una razón de aproximadamente el 3 al 10% en peso. Además, cuando se usa una HPC que tiene un peso molecular de aproximadamente 250.000 a 400.000, el espesante está tan disuelto en la disolución disolvente que llega a tener una razón de aproximadamente el 1 al 9% en peso, preferiblemente una razón de aproximadamente el 2 al 6% en peso.

Para preparar la preparación viscosa para uso dental de la presente invención, por ejemplo, se usa el método en el que se añade una disolución acuosa de bFGF a HPC en estado de polvo y mezclándolos, o se disuelve HPC en agua para obtener una disolución acuosa viscosa de HPC y una disolución acuosa de bFGF se mezcla en la misma, mediante lo cual se puede preparar opcionalmente. Con respecto al método específico de preparación, se describe específicamente de diversas maneras en los siguientes ejemplos, pero la presente invención no se limita a éstos, y se prepara opcionalmente dentro del sentido común técnico en este campo de la técnica. Además, la preparación viscosa para uso dental de la presente invención preparada tal como se mencionó anteriormente puede prepararse para garantizar una estabilidad del bFGF a largo plazo liofilizando la preparación, y preparándola de nuevo con la adición de agua en el momento de su uso. Además, puede conservarse el bFGF en un estado liofilizado, y en el momento de su uso, puede prepararse añadiendo una disolución acuosa viscosa de una HPC.

Por consiguiente, la presente invención también se refiere a un kit para preparar la preparación viscosa para uso dental de la presente invención que comprende bFGF y un espesante, y si es necesario, un aditivo inactivo y no tóxico y una disolución disolvente, y a un procedimiento para preparar la preparación viscosa para uso dental de la presente invención, que comprende disolver bFGF, un espesante, y si es necesario, un aditivo inactivo y no tóxico en una disolución disolvente.

Además, se requiere que la preparación viscosa para uso dental de la presente invención esté en un estado esterilizado dependiendo del método de aplicación, de modo que, en el momento de la preparación, pueda mantenerse en un estado esterilizado filtrando y esterilizando previamente una disolución de bFGF, sometiendo un polvo de HPC a esterilización por irradiación o esterilización en seco, y sometiendo un líquido viscoso de HPC a esterilización en autoclave, mediante lo cual puede garantizarse un estado esterilizado.

La preparación viscosa para uso dental de la presente invención preparada mediante el método mencionado anteriormente puede administrarse directamente a una parte afectada de diversos tipos de enfermedades periodontales de la misma manera que en una pomada, un agente en gel, una pasta y un agente líquido, etc. Por ejemplo, se toma una cantidad adecuada de la preparación viscosa mediante unos 2 ml de una jeringa de inyección unida a una aguja que tiene un diámetro de aproximadamente 18G, y se administra con la aguja de 18G cuando se administra a la parte afectada ampliamente con una gran cantidad. Además, cuando se administra a un espacio pequeño tal como una cavidad periodontal, se sustituye la aguja por una aguja de aproximadamente 26G, y entonces puede administrarse la preparación. También es posible que la preparación se rellene previamente en una parte de depósito de un producto de kit tal como una jeringa de inyección simplificada, y entonces se administra.

Además, es posible aplicar la preparación directamente o con una espátula sobre la parte afectada. Además de lo anterior, mediante la medición de una cantidad necesaria usando una bomba cuantitativa de tipo a presión, la preparación puede aplicarse directamente o con una espátula sobre la parte afectada.

Una dosis de la preparación viscosa para uso dental de la presente invención que va a administrarse puede cambiarse opcionalmente dependiendo del tipo de las enfermedades periodontales a las que va a aplicarse, de la gravedad, del intervalo de la parte afectada, del sexo o del peso corporal de un paciente y similares, y generalmente, en el caso de un ser humano, la preparación se aplica preferiblemente a la parte afectada en una dosis de modo que el bFGF se aplique en una dosis de aproximadamente 0,1 a 3000  $\mu\text{g}$ , preferiblemente de 1 a 1500  $\mu\text{g}$  por administración.

La preparación viscosa para uso dental de la presente invención puede aplicarse con el fin de tratamiento o profilaxis de enfermedades periodontales, no sólo periodontitis tal como se mencionó anteriormente, sino también reparación del periodonto tras la extracción de un diente y tras la eliminación de un quiste o cáncer de la cavidad bucal, del progreso de fijación de material de implante, de la regeneración de dentina removida por caries dental y similares. Por ejemplo, en el caso de la periodontitis, puede administrarse directamente a la parte afectada, y cuando se expone una superficie de la raíz del diente por una operación de colgajo, la preparación viscosa para uso dental de la presente invención se aplica o inyecta en la superficie expuesta. El número de administraciones puede variar dependiendo del tipo de las enfermedades periodontales, del grado de gravedad, etc., y por ejemplo, cuando se usa en una operación de colgajo en periodontitis, la presente preparación se administra sólo una vez puesto que se administra a la parte afectada tal como la superficie de la raíz del diente, etc., y se cose la parte afectada.

### Ejemplo

A continuación, se explicará la preparación viscosa para uso dental de la presente invención en más detalle, pero la

presente invención no se limita a esto. Por otro lado, se usó como bFGF humano que va a usarse en los siguientes ejemplos y ejemplos de prueba, Trafermin (recombinación genética).

#### **Ejemplo 1**

5 A 485 ml de agua se le añadió gradualmente HPC (HPC-H (disponible de Nippon Soda Co., Ltd.), 15,0 g) y se continuó con la agitación hasta que las partículas se dispersaron completamente y se disolvieron para obtener un líquido viscoso de HPC. Tras distribuirse en ampollas con 2 ml cada una, se selló mediante fusión y se esterilizó en una autoclave. El líquido viscoso de HPC resultante tenía una viscosidad de 10082,0 mPa·s (medida usando un viscosímetro de tipo E a 25°C. Además, en los siguientes ejemplos y ejemplos de prueba, se midió la viscosidad en las mismas condiciones que en el ejemplo 1 mencionadas por lo demás específicamente). Por separado, se filtró un tampón citrato/sacarosa (pH 5,1, 1,0 ml) que contenía cada uno 0,89 ó 2,67 mg/ml de bFGF humano y se esterilizó y se liofilizó en un vial. A este producto liofilizado se le añadió el líquido viscoso de HPC esterilizado mencionado anteriormente (1,0 ml), se agitó la mezcla, se dejó estar para su desgasificación para obtener una preparación viscosa para uso dental de la presente invención (se obtuvieron el ejemplo de preparación 1a (0,89 mg/ml) y el ejemplo de preparación 1b (2,67 mg/ml)).

#### **Ejemplo 2**

20 A 87 ml de agua se le añadió gradualmente HPC (HPC-H (disponible de Nippon Soda Co., Ltd.), 3,0 g) y 9,0 g de sacarosa y se continuó con la agitación hasta que las partículas se dispersaron completamente y se disolvieron para obtener un líquido viscoso de HPC. Se enfrió este líquido viscoso de HPC mientras se agitaba y se añadió gradualmente al mismo un tampón citrato (pH 5,1, 1,0 ml) que contenía 10,1 mg/ml de bFGF humano y se agitó hasta que la mezcla se hizo uniforme para obtener una preparación viscosa para uso dental de la presente invención.

#### **Ejemplo 3**

30 Se filtró un tampón citrato/sacarosa (pH 5,1, 1,0 ml) que contenía cada uno 0,89, 2,67 u 8,00 mg/ml de bFGF humano y se esterilizó y se liofilizó en un vial. A este producto liofilizado se le añadió 1 ml de agua para inyección para disolver el producto, y entonces, se añadió gradualmente HPC (HPC-H (disponible de Nippon Soda Co., Ltd.), 30 mg) para disolverse en la mezcla para obtener una preparación viscosa para uso dental de la presente invención.

#### **Ejemplo 4**

35 Se filtró un tampón citrato/sacarosa (pH 5,1, 1,0 ml) que contenía cada uno 0,89, 2,67 u 8,00 mg/ml de bFGF humano y se esterilizó y se añadió gradualmente al mismo HPC (HPC-H (disponible de Nippon Soda Co., Ltd.), 30 mg) y tras la disolución, se liofilizó la mezcla en un vial. Se añadió agua (1 ml) a este producto liofilizado para obtener una preparación viscosa para uso dental de la presente invención.

#### **Ejemplo 5**

45 Se filtró un tampón citrato/sacarosa (pH 5,1, 1,0 ml) que contenía cada uno 0,89, 2,67 u 8,00 mg/ml de bFGF humano y se esterilizó y se liofilizó la mezcla en un vial. Por separado, tras disolverse gradualmente HPC (HPC-H (disponible de Nippon Soda Co., Ltd.), 30 mg) con agua (1 ml), se liofilizó la mezcla en un vial. Se añadió agua (a cada uno 0,5 ml) a estos productos liofilizados y se mezclaron ambos materiales para obtener una preparación viscosa para uso dental de la presente invención.

#### **Ejemplo 6**

50 Se filtró un tampón citrato/sacarosa (pH 5,1, 1,0 ml) que contenía cada uno 0,89, 2,67 u 8,00 mg/ml de bFGF humano y se esterilizó y se añadió gradualmente al mismo HPC (HPC-H (disponible de Nippon Soda Co., Ltd.), 30 mg) para disolver el material para obtener una preparación viscosa para uso dental de la presente invención.

#### **Ejemplo 7**

55 Se añadió agua (1 ml) a HPC (HPC-H (disponible de Nippon Soda Co., Ltd.), 60 mg) para disolverse en el mismo y se añadió la disolución a un filtrado y se esterilizó un tampón citrato/sacarosa (pH 5,1, 1,0 ml) que contenía 5,34 mg/ml de bFGF humano y se mezcló para obtener una preparación viscosa para uso dental de la presente invención.

#### **Ejemplo 8**

65 Tras disolverse gradualmente HPC (HPC-H (disponible de Nippon Soda Co., Ltd.), 30 mg) en agua (1 ml), se liofilizó la disolución en un vial. Al producto liofilizado se le añadió un filtrado y se esterilizó un tampón citrato/sacarosa (pH 5,1, 1,0 ml) que contenía cada uno 0,89, 2,67 u 8,00 mg/ml de bFGF humano para disolver la mezcla y para

obtener una preparación viscosa para uso dental de la presente invención.

### Ejemplo 9

5 Tras disolverse gradualmente HPC (HPC-H (disponible de Nippon Soda Co., Ltd.), 60 mg) en agua (1 ml), se liofilizó la disolución en un vial. Al producto liofilizado se le añadió un filtrado y se esterilizó un tampón citrato/sacarosa (pH 5,1, 1,0 ml) que contenía cada uno 0,89, 2,67 u 8,00 mg/ml de bFGF humano para disolver la mezcla y para obtener una preparación viscosa para uso dental de la presente invención.

### 10 Ejemplo de prueba 1

Se investigó la estabilidad del bFGF en la preparación viscosa para uso dental de la presente invención.

15 Se conservaron las preparaciones (1a y 1b) obtenidas en el ejemplo 1 en una cámara con termostato a 25°C y se midió una razón restante del bFGF mediante el método de HPLC con un lapso de tiempo. Se muestran los resultados en la tabla 1.

Tabla 1

Tiempo (h)	Razón restante de bFGF (%)	
	Preparación 1a	Preparación 1b
8	98,7	98,6
24	98,1	99,6
42	99,1	98,9

20 A partir de los resultados mostrados en la tabla 1, se confirmó que las preparaciones viscosas para uso dental de la presente invención conservan de manera estable el bFGF a las 42 horas tras la preparación.

### 25 Ejemplo de prueba 2

Usando una célula de difusión de tipo Frantz, se investigó la propiedad de liberación de fármaco de la preparación (1b) obtenida en el ejemplo 1 como una razón de liberación de bFGF de la célula de difusión con respecto a una fase receptora, en comparación con una disolución acuosa de bFGF (concentración de bFGF: 0,267% en peso) como control. Se determinó una cantidad del bFGF en la fase receptora que pasa a través de una membrana hecha de celulosa mediante el método de HPLC con un lapso de tiempo para obtener la razón de liberación de bFGF. Como disolución receptora, se usó un tampón citrato/sacarosa. Se muestran los resultados en la figura 1.

35 Según los resultados mostrados en la figura 1, la preparación viscosa para uso dental de la presente invención mostró la tendencia de que puede almacenar el bFGF en una parte local durante un periodo de tiempo más largo que en la disolución acuosa de bFGF, y mostró un patrón en el que se liberó bFGF con una tasa constante durante un periodo de tiempo más largo.

### 40 Ejemplo de prueba 3

Se administró por vía intramuscular (50  $\mu$ l) la preparación viscosa para uso dental de la presente invención (concentración de bFGF: 0,97 mg/ml; concentración de HPC: 3%; viscosidad: 10423 mPa-s) que contenía bFGF marcado con  $^{125}$ I o una disolución acuosa de bFGF marcado con  $^{125}$ I en las proximidades del peroné en la pata trasera izquierda de ratas macho de la serie SD (7 semanas de edad). Una dosis administrada del bFGF fue de 48,52  $\mu$ g por cada rata, y como bFGF radiomarcado, fue de 264,29 kBq por cada rata. Quince minutos, 30 minutos y 6 horas tras la administración, se midió bFGF marcado con  $^{125}$ I en la parte administrada. Una razón restante de radioactividad en el tejido al que se administró se muestra en la figura 2. Los valores respectivos muestran un valor promedio de tres muestras  $\pm$  desviación estándar.

50 Según los resultados mostrados en la figura 2, cuando la preparación viscosa para uso dental de la presente invención se administra por vía intramuscular, la transferencia del bFGF a la sangre es lenta en comparación con el caso en el que se administra la disolución acuosa de bFGF. En las ratas a las que se les administró la preparación viscosa de la presente invención, permaneció el 90,6% del bFGF radiomarcado en la parte administrada a los 15 minutos tras la administración, y cuando se compara con el caso en el que se administró la disolución acuosa de bFGF, la razón restante de bFGF en la parte administrada fue significativamente alta ( $0,01 < p \leq 0,05$ , detección de la t de Student) en el caso en el que se administró la preparación de la presente invención. Además, la razón restante del bFGF en la parte administrada fue más alta en la preparación de la presente invención que la de la disolución acuosa tras 6 horas de la administración.

**Ejemplo de prueba 4**

5 Usando un bFGF marcado con  $^{125}\text{I}$  que tiene una actividad específica de aproximadamente 25 kBq/ $\mu\text{g}$ , se administró a una parte defectuosa del lado derecho de la mandíbula de conejos 50  $\mu\text{l}$  de la preparación viscosa para uso dental de la presente invención que tiene la composición mostrada en la siguiente tabla 2 o la disolución acuosa de bFGF marcado con  $^{125}\text{I}$ , y se midió una razón restante del bFGF marcado con  $^{125}\text{I}$  a las 6 horas tras la administración.

Tabla 2

	Concentración de bFGF marcado con $^{125}\text{I}$	Concentración de HPC	Viscosidad (mPa·s)	Dosis administrada de bFGF ( $\mu\text{g}$ )
Disolución acuosa de bFGF marcado con $^{125}\text{I}$	0,99 mg/ml	0	0	49,5
Preparación viscosa 1 de la presente invención	1,67 mg/ml	1%	53	83,5
Preparación viscosa 2 de la presente invención	1,71 mg/ml	2%	1126	85,5
Preparación viscosa 3 de la presente invención	1,05 mg/ml	3%	7898	52,5

10 Más específicamente, bajo anestesia con Nembutal (se administró una disolución 50 mg/ml en una cantidad de aproximadamente 3 ml), se mantuvieron conejos con el abdomen hacia abajo y se anestesiaron localmente con xilocaína (se administró aproximadamente una disolución 20 mg/ml en una cantidad de aproximadamente 1 ml), se cortó la encía desde un incisivo hasta un diente posterior junto con el lado derecho de la mandíbula y se separó el perostio para preparar un defecto de tipo de dos paredes en una parte del diente incisivo de un cuerpo de mandíbula en el lado derecho de la mandíbula (anchura bucolingual: aproximadamente 4 mm; anchura mesiodistal: aproximadamente 8 mm; profundidad: aproximadamente 4 mm). Tras hemostasia, se administraron 50  $\mu\text{l}$  de la preparación viscosa para uso dental de la presente invención o la disolución acuosa de bFGF marcado con  $^{125}\text{I}$  a la parte defectuosa en el lado derecho de la mandíbula, y tras dejar estar durante 30 segundos, se suturó la encía cortada poniéndola en la parte defectuosa. Tras 6 horas de la administración, se recogió sangre completa, se extrajeron el lado derecho de la mandíbula (desde el incisivo derecho incluyendo la parte defectuosa hasta antes del premolar) y la encía cortada y suturada, y se midió la radioactividad mediante un contador  $\gamma$ . Se muestra una razón restante (%) del bFGF marcado con  $^{125}\text{I}$  tras 6 horas de la administración basada inmediatamente tras la administración en la tabla 3 así como en la figura 3.

25

Tabla 3

Razón restante (%) de bFGF marcado con $^{125}\text{I}$ en una parte defectuosa de mandíbula de conejo			
Disolución acuosa de bFGF marcado con $^{125}\text{I}$	Preparación viscosa 1 de la presente invención	Preparación viscosa 2 de la presente invención	Preparación viscosa 3 de la presente invención
27,2	50,7	54,0	73,0

30 A partir de los resultados mencionados anteriormente, en comparación con el caso en el que se administró disolución acuosa de bFGF, cuando se administró la preparación viscosa de la presente invención, podría admitirse que bFGF permaneció en la parte administrada, particularmente en la parte derecha de la encía con una alta concentración incluso tras 6 horas de la administración, y la razón restante fue tan alta como la concentración de HPC contenida en la preparación viscosa de la presente invención. A partir de estos resultados, en la preparación viscosa de la presente invención, podría mostrarse que el bFGF podía permanecer en la parte administrada con una alta concentración a lo largo de un largo periodo de tiempo tras la administración en comparación con la disolución acuosa de bFGF.

35

Campo utilizable en la industria

40 La preparación viscosa para uso dental de la presente invención contiene un factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) como componente eficaz, y contiene además un espesante tal como se define en la reivindicación 1, mediante lo cual tiene un determinado grado de una viscosidad. Como resultado, el bFGF como componente eficaz puede conservarse fisicoquímicamente de manera estable, y cuando se aplica a una parte afectada como agente de tratamiento de diversos tipos de enfermedades periodontales tales como periodontosis, etc., puede aplicarse



5 uniformemente sobre la parte enferma, y la estimulación o una sensación extraña en la parte afectada es poca. La preparación aplicada permanece durante un periodo de tiempo relativamente más largo sin gotear de la parte aplicada, mediante lo cual se libera el bFGF contenido en la preparación a la parte afectada de manera estable, y como resultado, pueden obtenerse excelentes efectos de consolidación. Además, la preparación de la presente invención tiene fluidez, de modo que se hace corresponder con la irregularidad o cavidad de la parte enferma y puede administrarse de manera precisa.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Preparación viscosa para uso dental que comprende factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF) como componente eficaz y además un espesante, que es al menos uno seleccionado del grupo que consiste en hidroxipropilcelulosa, alginato de sodio, alginato de propilenglicol, polímero de carboxivinilo, carmelosa sódica, ácido hialurónico, hialuronato de sodio, hidroxietilcelulosa, hidroxietilmetilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, poli(ácido acrílico), poli(acrilato de sodio), producto parcialmente neutralizado de poli(ácido acrílico), poli(alcohol vinílico), metilcelulosa, goma xantana, ácido condroitin-sulfúrico y condroitin-sulfato de sodio.
- 10 2. Preparación viscosa para uso dental según la reivindicación 1, en la que el espesante es hidroxipropilcelulosa.
- 15 3. Preparación viscosa para uso dental según la reivindicación 1 ó 2, en la que la cantidad de bFGF es del 0,0001 al 20% en peso basado en el peso total de la preparación.
- 20 4. Preparación viscosa para uso dental según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para su uso en el tratamiento de la periodontosis.
- 25 5. Kit para preparar la preparación viscosa para uso dental según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende bFGF, un espesante según la reivindicación 1 y, si es necesario, un aditivo inactivo y no tóxico y una disolución para su disolución.
6. Método para preparar la preparación viscosa para uso dental según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, que comprende disolver bFGF, un espesante según la reivindicación 1 y, si es necesario, un aditivo inactivo y no tóxico en una disolución para su disolución.
7. Método según la reivindicación 6, en el que la disolución para su disolución es agua.

Fig. 1

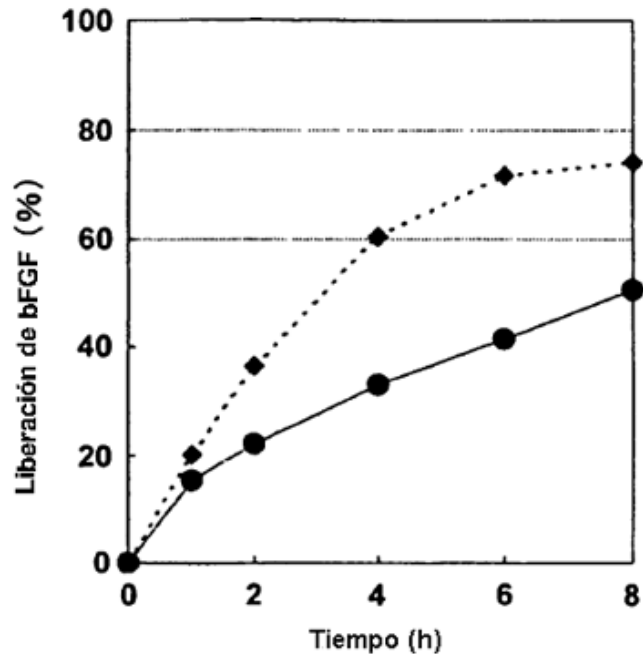
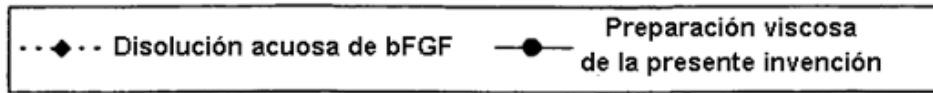


Fig. 2

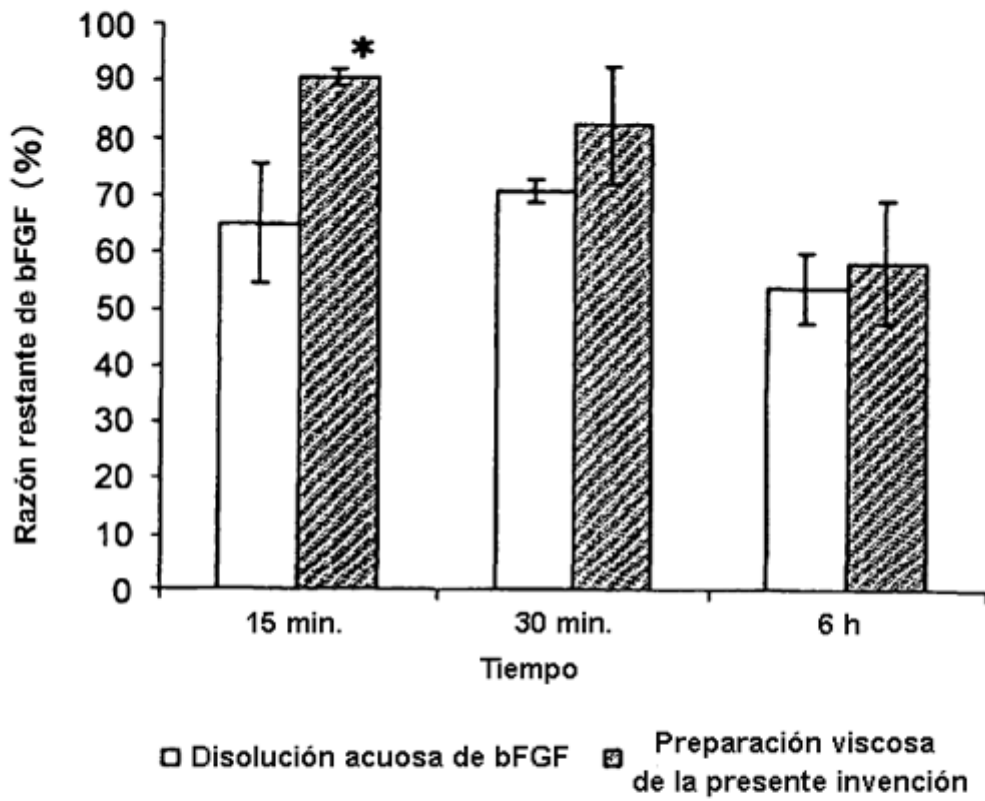


Fig. 3

