

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 436 179**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 31/728 (2006.01)

A61P 19/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.12.2005 E 05855034 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2013 EP 1835923**

54 Título: **Regímenes para viscosuplementación intraarticular**

30 Prioridad:

30.12.2004 US 640749 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.12.2013

73 Titular/es:

**GENZYME CORPORATION (100.0%)
500 KENDALL STREET
CAMBRIDGE, MA 02142, US**

72 Inventor/es:

BAILLEUL, FRANCOIS

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 436 179 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

Regímenes para viscosuplementación intraarticular

Campo de la invención

5 Esta invención se refiere a reumatología y ortopedia. Más específicamente, la invención se refiere al tratamiento de la patología del cartílago (por ejemplo, osteoartritis) por viscosuplementación.

Antecedentes de la invención

10 La osteoartritis (OA) es un trastorno degenerativo progresivo caracterizado por la descomposición del cartílago en las articulaciones, un deterioro del líquido sinovial presente en las uniones articulares y una osteoesclerosis subcondrial acompañada por la formación de osteofitos. Con frecuencia, los pacientes con OA presentan un dolor fuerte que afecta a muchos aspectos de su vida diaria. La prevalencia de la OA aumenta con la edad siendo probable que más de 60% de los que tienen 60 años o más tengan alguna anomalía de los cartílagos (Bjelle (1982), Scand. J. Rheumatol. Suppl. 43:35-48). La OA se ha convertido en la forma más costosa de la artritis, representando colectivamente hasta el 1-2,5% del producto nacional bruto de las naciones occidentales (Reginster (2002) Rheumatology, 41 (Suppl. 1):3-6).

15 El líquido sinovial lubrica y protege las superficies intraarticulares de las articulaciones. El líquido está compuesto principalmente por el polisacárido de alto peso molecular hialuronano (HA, sal sódica del ácido hialurónico, conocido también como hialuronato sódico). La concentración de HA en el líquido sinovial de la articulación humana normal es de aproximadamente 3 mg/ml. El HA consiste en unidades repetidas de disacárido de N-acetilglucosamina y glucuronato sódico (Fig. 1). El HA en el líquido sinovial normal de las articulaciones con un peso molecular total (PM) de 5 MDa (Balazs y otros (1983), J. Rheumatol. Suppl., 39:3-9). En pacientes de OA, la concentración y el peso molecular de HA en el líquido sinovial disminuye, lo que da por resultado una capacidad disminuida del líquido para proteger el cartílago.

20 La inyección intraarticular de una solución elastoviscosa que contiene HA de alto peso molecular ha revelado que restaura la homeostasis normal de la articulación dañada. Este procedimiento, llamado viscosuplementación, ha demostrado ser eficaz para reducir el dolor e intensificar la función articular (véase, por ejemplo, Balazs y otros (1993), J. Rheumatol. Suppl. 39:3-9; Wobig (1998), Clin. Ther., 20(3): 410-423).

25 Hay disponibles en el mercado diversos viscosuplementos basados en HA y se están desarrollando nuevos productos. Los viscosuplementos varían en varias características, incluidas, por ejemplo, la fuente de HA (derivadas de animales o bacterias) la concentración y el PM del HA, y el tipo y grado de reticulación química usada, si se ha usado. Usualmente, la mayoría de los viscosuplementos contienen 5-15 mg/ml de HA y, una vez inyectados, tienen una semivida de residencia de entre horas y varios días. Tales viscosuplementos se inyectan en la rodilla en 2-3 volúmenes de unidad en una serie de tres a cinco inyecciones por cada semana. En algunos casos, el alivio del dolor se produce en unos pocos días, continúa progresando unas pocas semanas y con frecuencia dura varios meses, incluso hasta un año. Por ejemplo, una viscosuplementación en rodilla con Synvisc® (hilano G-F20; Genzyme Corp., Cambridge, MA), administrado tres veces a 2 ml por semana ha demostrado ser al menos tan buena, o mejor, que una terapia oral completa con fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID) más antrocentesis a lo largo de 6 meses (Adams y otros (1955) Osteoarthritis and Cartilage, 3: 213-225) y más eficaz que un placebo salino o controles de artrocentesis (Moreland (1993), Am. Coll. Rheumatol. (57th. Ann. Sci. Meeting, 7-11 nov., San Antonio, TX), 165; Wobig (1998) Clin. Ther., 20(3): 410-423).

30 Se ha creído que las series de inyecciones múltiples son esenciales para un efecto prolongado (de seis meses a un año) sobre el dolor osteoartítico principalmente por la corta semivida de residencia intraarticular de la mayoría de los viscosuplementos (Peyron (1993), J. Rheumatol., 20 (Suppl. 39):10-15). Por ejemplo, una semivida de residencia intraarticular de 1% de HA con un PM medio de 1,7-2,6 MDa es de 11 horas, según se ha determinado para conejos. A medida que crece el PM del HA, crece la semivida (por ejemplo, 1% de hilano A que contiene 0,4% de HA, en el que el PM medio del HA es de 6 MDa, tiene una semivida de residencia de $1,2 \pm 1$ día). Sin embargo, incluso un sol insoluble, tal como hilano B que contiene 0,4% de HA, tiene una semivida de residencia relativamente corta, de $7,7 \pm 1$ día. Congruentemente con los datos de semivida, tres inyecciones de 2 ml de Synvisc® en una rodilla con OA demostraron ser significativamente más eficaces para reducir el dolor de OA que dos inyecciones de 2 ml (Scale y otros (1994) Curr. Ther. Res., 55 (3):220-232).

35 Para el tratamiento con Synvisc® de pacientes con OA de cadera, la dosis recomendada es una inyección de 2 ml con una segunda inyección opcional administrada entre un mes y tres meses si se experimenta un alivio del dolor insuficiente (Chevalier (2000), Am. Coll. Rheumatol. (64 th. Annual Scientific Meeting, 30 oct- 3 nov., Filadelfia, PA)). En pacientes con OA en cadera, una sola inyección intraarticular de 2 ml de Synvisc® tuvo un efecto sintomático inmediato significativo y sostenido, en la mayoría de pacientes tratados durante hasta tres meses (duración del estudio). No se ha investigado si mayores volúmenes de viscosuplementos tales como Synvisc® (por ejemplo, 4, 6

ml) podrían ofrecer una eficacia equivalente o mejor con menos inyecciones en comparación con la inyección múltiple de 2-3 ml o una sola inyección de 2 ml. En la medida en que se conoce, el uso de volúmenes mayores comporta un riesgo de efectos locales adversos tales como dolor, hinchamiento y derrame.

5 Durolane^{MC} (Q-Med AB, Uppsala, Suecia) es el único viscosuplemento recomendado para inyectar una sola vez, con 3 ml. Es un viscosuplemento epoxirreticulado con una semivida más larga (4 semanas) y una concentración de HA más alta (20 mg/ml). Se cree que el tiempo de residencia prolongado permite reducir el número de inyecciones. Pero una sola inyección de Durolane^{MC} no demostró beneficios estadísticos sobre el placebo (Altman y otros (2004), Osteoarthritis and Cart., 12:642-649).

10 Así, antes de la presente invención, se desconocía si una inyección única de un viscosuplemento basado en HA, en particular uno de una vida de residencia corta, puede producir el deseado efecto terapéutico a largo plazo.

El uso de menos inyecciones ofrece ventajas sobre las inyecciones múltiples, incluidos evitación de efectos adversos, costes reducidos, y mejor aceptación por el paciente. Existe una necesidad continua de desarrollar nuevos tratamientos de viscosuplementación que proporcionen un alivio eficaz a pacientes de OA sin necesitar inyecciones múltiples.

15 **Sumario de la invención**

La invención proporciona un viscosuplemento para uso en el tratamiento del dolor en la articulación de la rodilla en un sujeto humano, por ejemplo, asociado con osteoartritis y lesión articular.

20 Consecuentemente, la invención proporciona un viscosuplemento que comprende hialuronano (HA) reticulado para uso en el tratamiento del dolor de la articulación de la rodilla en un ser humano sometido a un régimen de tratamiento, teniendo el viscosuplemento una semivida de residencia en la unión de menos de 3 semanas, comprendiendo el régimen de tratamiento una administración única intraarticular del viscosuplemento en una cantidad suficiente para proporcionar un efecto terapéutico durante hasta seis meses a la articulación de la rodilla.

25 La invención proporciona también el uso de un viscosuplemento que comprende hialuronano (HA) reticulado en la fabricación de un medicamento para tratar el dolor en la articulación de la rodilla en un sujeto humano mediante un régimen de tratamiento, teniendo el viscosuplemento una semivida de residencia en la unión de menos de 3 semanas, comprendiendo el régimen de tratamiento una administración única intraarticular del viscosuplemento en una cantidad suficiente para proporcionar un efecto terapéutico durante hasta seis meses a la articulación de la rodilla.

30 La invención está basada, al menos en parte, en el descubrimiento de que una sola inyección intraarticular de un volumen mayor de un viscosuplemento proporciona beneficios terapéuticos a largo plazo comparables a los producidos por inyecciones en serie de volúmenes menores. En un estudio realizado en conexión con la inyección, un grupo de pacientes con OA de rodilla recibió la secuencia estándar de tres inyecciones de 2 ml de Synvisc® en la rodilla durante un período de tres semanas, mientras que otro grupo recibió una sola inyección de 6 ml en condiciones idénticas. Sorprendentemente, la eficacia terapéutica, según evaluación a 26 semanas después del tratamiento, se encontró que era comparable en ambos grupos. Así, una sola inyección de un volumen mayor de un viscosuplemento, tal como Synvisc®, puede ser tan eficaz como varias inyecciones de menor volumen, mientras que se mantiene el mismo perfil de seguridad.

35 Consecuentemente, la inyección proporciona regímenes para viscosuplementación intraarticular con viscosuplementos basados en HA con una semivida de residencia intraarticular ($T_{1/2}$) inferior a 3 semanas. Los viscosuplementos para uso en la invención se pueden caracterizar además porque contienen menos de 20 mg/ml de HA (derivatizado por reticulación), al menos 5% del cual está en forma de gel, tal como, por ejemplo, hilano B. En una realización ilustrativa, el viscosuplemento es hilano G-F 20 (Synvisc®), que contiene 8 ± 2 mg/ml de HA, del que el 10% en peso está en forma de gel.

45 El viscosuplemento es para administración en una inyección única en cantidad suficiente para proporcionar un efecto terapéutico durante hasta 6 meses a partir de la inyección. En algunas realizaciones, el efecto terapéutico de una inyección única de un volumen mayor sustancialmente es el mismo que el de tres inyecciones (cada una de 1/3 del volumen de la inyección mayor) administradas en el transcurso del tratamiento. En una realización ilustrativa, Synvisc® se administra en una sola inyección de 6 ml. en vez de tres de 2 ml, en un período de tres semanas.

Breve descripción de las figuras

50 La Fig. 1 ilustra la estructura del hialuronano (hialuronato sódico).

Descripción detallada de la invención

Definiciones.

Los términos "semivida intraarticular", "semivida de residencia" y sus cognados se refieren al tiempo más largo de

cualquiera de los tiempos aplicables a un viscosuplemento inyectado en un espacio intraarticular: (a) el tiempo requerido para aclaramiento del 50% del componente gel de HA inyectado; (b) el tiempo requerido para aclaramiento del 50% del componente líquido de HA inyectado; (c) el tiempo requerido para aclaramiento del 50% del HA, independientemente de si es líquido, gel u otra forma. A los fines del cálculo de la semivida de residencia, a no ser que se establezca otra cosa, se considera que la inyección se ha de administrar en el espacio intraarticular de una articulación de la rodilla de un ser humano adulto. Los procedimientos para determinar la semivida de residencia son conocidos en la técnica y en los Ejemplos se describen procedimientos ilustrativos.

Las expresiones "líquido de HA", "fase líquida de HA", "componente líquido de HA", "HA soluble" y sus cognados se refieren a HA soluble en agua ligeramente reticulado, con un PM medio de menos de 20 MDa.

La expresión "gel de HA", "fase gel de HA", "componente gel de HA" y sus cognados se refieren a gel de HA que es una parte insoluble en agua de una composición basada en HA que no contiene HA soluble o contiene menos de 10% (p/p) de HA soluble. Típicamente, la cantidad de gel en una composición basada en HA dada que contiene una mezcla de gel de HA y líquido de HA puede determinarse separando el gel de HA del líquido de HA. La separación se puede realizar filtrando la composición a través de, por ejemplo, un filtro de 45 μm , por el que pasa HA soluble pero que retiene la fase insoluble. Con el fin de maximizar la liberación de HA soluble del gel de HA en composiciones más viscosas, puede ser necesario diluir una composición con varios volúmenes de un disolvente poniéndolo en equilibrio, o no poniéndolo, antes de la filtración. Además, generalmente se pueden distinguir geles puros de líquidos puros basándose en sus propiedades reológicas tales como el módulo (elástico) de almacenamiento (G') y el módulo (viscoso) de pérdida (G'') que representan, respectivamente, los grados relativos que un material puede recuperar (respuesta elástica) o el flujo (respuesta viscosa) como grado de cambios por deformación (frecuencia de ensayo). Ambos módulos son funciones lineales de la frecuencia. Han revelado ser pruebas sensibles de la estructura de las soluciones y geles de polímero. Tanto G' como G'' aumentan al aumentar la frecuencia, pero uno aumenta más rápidamente que el otro. En el momento en que $G' = G''$, esta frecuencia se denomina frecuencia de cruce (f_c). La frecuencia de cruce disminuye al aumentar el peso molecular del polímero o la concentración. Para una solución de polímero a baja frecuencia, se relajan las tensiones elásticas y dominan las tensiones viscosas; como resultado, G'' es mayor que G' a frecuencias inferiores a f_c . A diferencia, para un gel, no hay un cruce entre G' y G'' y G' es mayor que G'' en el intervalo de frecuencia. A no ser que se especifique lo contrario, la frecuencia de ensayo es de 0,04-7 Hz. Para una recopilación de las propiedades físicas de materiales viscoelásticos y procedimientos para medir estas propiedades, véase por ejemplo *Polymers as Rheology Modifiers*, editado por Schulz y Glass, ACS Symposium Series 462, 1991; *An Introduction to Rheology*, H.A. Barnes, J.F. Hutton y K. Walters, Elsevier, 1989; y Bohlin Rheometer Application Notes MRK544-01, MRK566-01 y MRK573-01.

Los términos "HA", "hialuronato", "hialuronano" se usan de forma intercambiable y, a no ser que se establezca lo contrario, se refieren a HA reticulado, independientemente de la fuente (fermentado bacterianamente o derivado de animales), el peso molecular, su forma física (por ejemplo, gel o líquido) o el método de producción.

Regímenes

De acuerdo con la invención, la viscosuplementación consiste en una única inyección intraarticular de viscosuplemento en un período de 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 semanas, en cantidad suficiente para proporcionar un efecto terapéutico durante hasta 6 meses después de la inyección. En algunas realizaciones, el efecto terapéutico de una inyección única de un volumen mayor es sustancialmente el mismo que el alcanzado por tres inyecciones (cada una de 1/3 del volumen mayor) administradas en el transcurso del tratamiento. El régimen de una sola inyección proporciona un dolor reducido de la articulación para hasta 6 meses después de la inyección.

El efecto terapéutico se puede estimar por cualquier método adecuado (véase, por ejemplo, Altman y otros (1996), *Osteoart. Cart.*, 4:217-243). Por ejemplo, el efecto terapéutico se puede estimar midiendo una reducción del dolor en la unión. El grado de dolor de la unión se puede clasificar de acuerdo con la escala de 5 puntos de Likert (por ejemplo, no hay dolor, dolor suave, moderado, fuerte, muy fuerte) o en una escala análoga visual de 100 mm (VAS) como se describe en los Ejemplos. Entre otros índices de dolor adecuados figuran el Health Assessment Questionnaire (HAQ) (Fries y otros (1980), *Arthritis Rheumatol.*, 23, 137-145), y Arthritis Impact Measurement Scale (AIMS) (Meenam y otros (1980), *Arthritis Rheumatol.*, 23:146-154).

El efecto terapéutico se puede estimar también midiendo la mejora del grado de discapacidad funcional. La discapacidad funcional se puede medir usando un índice multidimensional validado, segregado, (SMI) tal como el índice OA de las Western Ontario and McMaster Universities (WOMACTM) para OA de cadera y rodilla. (Bellamy y otros (1988), *J. Rheumatol.* 34:1833-1840; véanse también los Ejemplos); o un índice multidimensional agregado (AMI) tal como el Algo-Functional Index (AFI) para cadera y rodilla (Lequesne y otros (1987), *Scand. J. Rheumatol. Suppl.*, 65: 85-89).

El efecto terapéutico se puede evaluar también por estimación del estado global por un paciente o un médico. El estado global se puede estimar usando una escala Likert o VAS, por ejemplo, como se describe en los Ejemplos.

Entre los indicios adicionales del efecto terapéutico se puede incluir el examen de la articulación (véase, por ejemplo, (Theiler y otros (1994), Osteoarth. Cart., 2: 1-24), medidas basadas en el comportamiento (véase, por ejemplo, Rejeski y otros (1995) Osteoarth. Cart.3:157-168), etc.

5 En algunas realizaciones, el viscosuplemento es para administración en la articulación de la rodilla en la cantidad de 6 ± 2 ml o más, por ejemplo, 4, 4,25, 4,5, 4,75, 5, 5,25, 5,5, 5,75, 6, 6,25, 6,5, 6,75, 7, 7,25, 7, 7,25, 7,5, 7,75, 8 ml o más.

Viscosuplementos

Un viscosuplemento basado en HA útil en la invención se caracteriza por (i) y una cualquiera o todas las características de (ii) y (iii) como sigue.

10 (i) el viscosuplemento tiene una semivida de residencia de menos de 3 semanas;

(ii) el viscosuplemento contiene menos de 20 mg/ml de HA;

(iii) 5% (p/p) o más de HA del viscosuplemento está en forma de gel;

15 En una realización ilustrativa, el viscosuplemento usado en la invención es Synvisc®. El Synvisc® contiene 8 ± 2 mg/ml de HA en dos formas: una forma soluble, hilano A (PM medio 6.000 MDa) y una forma de gel hidratada, hilano B, en solución fisiológicamente aceptable. La proporción de hilano B en Synvisc® es de 9:1 en peso de HA. Hilano A es un hialuronano soluble en agua químicamente modificado por reticulación covalente con pequeñas cantidades de un aldehído, típicamente formaldehído, mientras que hilano B es hilano A modificado además por divinilsulfona. El hilano líquido es hilano A hidratado, una forma modificada de hialuronano con un pequeño número de reticulaciones que aumentan su peso molecular medio y aumentan sus propiedades elastoviscosas. El gel de hilano es la forma hidratada de hilano B y se prepara por reticulación de hilano A en una red polímera continua usando divinilsulfona como reactivo bifuncional de reticulación.

20 Los viscosuplementos usados en los regímenes proporcionados por la invención incluyen los viscosuplementos basados en HA que tienen una semivida intraarticular de residencia más corta que 21, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4 y 3 días. En algunas realizaciones, la semivida de residencia del viscosuplemento es de más de 2, 3, 4, 5, 6 o 7 días.

Los viscosuplementos usados en la invención se pueden caracterizar además porque contienen menos de 20 mg/ml de HA, por ejemplo, en el intervalo de 1-15, 1-10, 1-5, 5-15, 5-10, 10-15, -10 y 7-9 mg/ml. La cantidad de HA en una composición dada se puede determinar por cualesquier procedimientos adecuados descritos, por ejemplo, en los Ejemplos.

30 Las composiciones de los viscosuplementos usados en la invención se pueden caracterizar además porque como mínimo 10% en peso de HA del viscosuplemento está en forma de gel. Por ejemplo, en algunas realizaciones, el viscosuplemento comprende al menos 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 99% o más de gel de HA. En algunas realizaciones, el viscosuplemento contiene 10-90%, 10-75%, 10-50%, 10-40%, 10-25% de gel de HA. En algunas realizaciones, la relación de gel de HA/líquido de HA contiene intervalos de 1:50-10:1 (p/p). por ejemplo, 1:50, 1:25, 1:15, 1:10, 1:9, 1:8, 1:7, 1:6, 1:5, 1:4, 1:3, 1:2; 1:1,2, 1,3:1,4, 1,5:1,6; 1,7:1,8; 1,9:1 y 10:1.

40 Los viscosuplementos para uso en la invención pueden contener además HA soluble en agua en una fase líquida, con un PM del HA en el intervalo de 500-20.000 kDa, por ejemplo 500-1.000, 500-1.500, 500-3.000, 500-5.000, 500-7.000, 500-10.000, 500-15.000, 1.000-1.500, 1.000-3.000, 1.000-5.000, 1.000-1.700, 1.000-10.000, 1.000-15.000, 5.000-10.000 y 10.000-15.000 kDa.

El HA puede ser de origen animal, por ejemplo, derivado de crestas de gallo o cordones umbilicales, o de origen no animal, por ejemplo, fermentados bacterianamente. El HA fermentado bacterianamente se puede producir como describen, por ejemplo, Cooney y otros (1999) Biotechnol. Prog., 15:898-910. El HA fermentado bacterianamente también está disponible comercialmente (por ejemplo, Shiseido, Japón; Sigma-Aldrich, USA).

45 El HA está reticulado. Entre los ejemplos de reticuladores figuran aldehído, epóxido, poliaziril, glicidiléter (por ejemplo, 1,4-butanodiol diglicidiléter) y divinilsulfona.

Entre los ejemplos específicos de viscosuplementos útiles en la invención figuran Synvisc®. Entre otros productos adecuados en la invención figuran viscosuplementos descritos en las patentes U.S. n^{os}. 5.143.724, 4.713.448, 5.099.013, 5.399.351, 6.521.223, 5.827.937: la solicitud de patente U.S. n^o. 60/533.429.

50 La preparación de hilanos y viscosuplementos incluidos hilano A e hilano B se describe en, por ejemplo, las patentes U.S. n^{os}. 5.143.724, 4.713.448, 5.099.013 y 5.399.351.

Los viscosuplementos excluyen el DurolaneTM y/u otros viscosuplementos con una semivida de residencia de más

de 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 o 50 días.

5 Los viscosuplementos pueden contener también componentes activos o inactivos adicionales, incluidos, por ejemplo, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID), por ejemplo, ibuprofeno, diclofenac y piroxicam; anestésicos, por ejemplo, licodaina y bupivacaína; analgésicos opioides tales como metrotexato, 5-fluorouracilo y paclitaxel; y agentes antivirales, por ejemplo, aciclovir y vidarabina. Los viscosuplementos también pueden contener componentes tales como células (por ejemplo, condrocitos o células madre mesenquimales), proteínas, ADN, vitaminas y otro material activo biológicamente deseable.

Usos y administración

10 La invención proporciona el viscosuplemento para uso en el tratamiento de sujetos humanos con dolor en la articulación de la rodilla y molestias asociadas con tal patología. Entre los ejemplos de tal patología figuran osteoartritis (primaria (idiopática) o secundaria), artritis reumatoide, lesión articular (por ejemplo, lesión de movimiento repetitivo), patología del cartilago (condromalacia) y estados preartríticos. La invención se practica en seres humanos que necesitan tratamiento del dolor de la articulación de la rodilla.

15 El sitio de administración es la rodilla.

Los Ejemplos siguientes proporcionan realizaciones ilustrativas. Los ejemplos no limitan en forma alguna la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1: Inyección intraarticular de Synvisc® en pacientes con OA

20 Se realizó un estudio prospectivo para evaluar la seguridad y eficacia (incluida la duración de la acción) de inyecciones intraarticulares de 4 ml o 6 ml de Synvisc® frente a la pauta de dosificación corriente de tres inyecciones intraarticulares de 2 ml de Synvisc® en pacientes de ambulatorio con OA tibiofemoral sintomático (dolor global de OA en la rodilla en estudio en el intervalo de 50-80 en una puntuación VAS de 100 mm). Otros criterios de inclusión fueron edad de 40 años o mayor; grado de Kellgren-Lawrence II-III por rayos XC dentro de los últimos 3 meses; ausencia de derrame tenso; traumatismo de déficit mecánico, o reciente (<2 años). Se distribuyeron al azar en cinco grupos 100 pacientes (edad media 61 años, variable de 59 a 66, 55% de mujeres).

Grupo 1: una inyección de 6 ml;

Grupo 2: una inyección de 4 ml;

Grupo 3: dos inyecciones de 4 ml distanciadas dos semanas;

30 Grupo 4: tres inyecciones de 4 ml distanciadas una semana, y

Grupo 5: la pauta estándar de 3 inyecciones de 2 ml distanciadas una semana.

Los pacientes se siguieron luego hasta los (semanas 2, 3, 8, 16 y 24). Los puntos finales de estimación primaria y secundaria usados se describen seguidamente.

A. Autoestimación por el paciente del dolor de OA

35 El punto final de eficacia primaria de este estudio es evaluar la eficacia de la viscosuplementación con Synvisc® en pacientes con OA de la rodilla respecto al alivio del dolor por OA de la rodilla en estudio. Esto se mide en un paciente autoestimado de 100 mm de VAS, con puntos finales sin dolor (0 mm) a dolor extremado (100 mm) en las últimas 48 horas; realizado después de 24 horas de la primera inyección.

B. Autoestimación global del paciente

40 El paciente evaluó el estado general de su rodilla diana en VAS 100 mm que varió de muy bueno (0 mm) a muy malo (100 mm), teniendo en cuenta todos los signos y síntomas relacionados en las 48 horas previas. Las instrucciones exactas presentadas al paciente fueron las siguientes: "Por favor, indique usando una línea vertical más adelante el estado general global de su rodilla (en estudio) en el momento de esta visita. La puntuación de la izquierda o "0" indica "muy bueno", mientras que la puntuación "100" indica "muy malo".

45 C. WOMAC™

El paciente completó la versión VAS de WOMAC™ descrita por Bellamy y otros (1988), J. Rheumatol. 15(12): 1833-40. Esta escala es una medida del estado de salud, tridimensional, específica de la enfermedad, autoadministrada. Prueba síntomas clínicamente importantes, relevantes para el paciente en las áreas de dolor, rigidez y función física en un total de 24 cuestiones. El WOMAC™ se suministró al paciente en lenguaje local y usualmente se completó en 50 menos de 5 minutos. Las subsecciones de WOMAC™ son las siguientes.

La sección A de WOMAC™ consiste en cuestiones que se refieran a niveles de dolor durante la actividad y las respuestas son puntuadas (por el paciente) con un VAS que va desde no hay dolor (0) a dolor extremado (100 mm). La estimación del dolor se hace en los siguientes escenarios:

- | | | |
|---|--|----------------------|
| 5 | 1. ¿Andando sobre una superficie lisa? | [andando] |
| | 2. ¿Subiendo o bajando escaleras? | [subiendo escaleras] |
| | 3. ¿De noche mientras que se está tendido sobre la cama? | [nocturno] |
| | 4. ¿Sentado o echado? | [descansando] |
| | 5. ¿De pie? | [soportando peso] |

10 La subpuntuación media para la Sección A de WOMAC estaba basada en las respuestas a cada uno de los componentes de la Sección A.

La Parte B de WOMAC^{MC} (puntuación de la rigidez) consiste en cuestiones referentes a la severidad de la rigidez durante la actividad y son puntuadas (por el paciente) con VAS que cubre desde ausencia de dolor (0 mm) a rigidez extrema (100 mm). La estimación de la rigidez se hizo en los escenarios siguientes;

- | | | |
|----|---|------------------------------------|
| 15 | 1. ¿Después de despertarse por la mañana? | [rigidez matinal] |
| | 2. ¿Durante el descanso más tarde? | [rigidez más tarde durante el día] |

La subpuntuación media para la Sección B se basó en las respuestas a cada uno de los componentes de la Sección B.

20 La Sección C de WOMAC™ consiste en cuestiones referentes a empeoramiento funcional durante la actividad y las respuestas se puntúan (por el paciente) con un VAS que cubre desde sin dificultad (0 mm) a extremadamente difícil (100 mm). La estimación del empeoramiento funcional se hizo en los siguientes escenarios:

- | | | |
|----|---|---|
| 25 | 1. ¿Bajando escaleras? | [rigidez matinal] |
| | 2. ¿Subiendo escaleras? | [rigidez que se presenta más tarde en el día] |
| | 3. ¿Al levantarse estando sentado? | [al levantarse] |
| | 4. ¿De pie? | [de pie] |
| 30 | 5. ¿Agachándose? | [al agacharse] |
| | 6. ¿Al andar sobre superficie plana? | [andando sobre superficie plana] |
| | 7. ¿Entrando y saliendo del coche? | [coche] |
| | 8. ¿Yendo de compras? | [de compras] |
| | 9. Poniéndose o quitándose calcetines | [calcetines/quitándose calcetines] |
| 35 | 10. Tendido en la cama | [tendido en la cama] |
| | 11. Saliendo y/o entrando en el baño | [entrando o saliendo del baño] |
| | 12. Sentado | [sentado] |
| | 13. Sentándose o levantándose del retrete | [al usar el retrete] |
| | 14. Labores domésticas pesadas | [labores domésticas pesadas] |
| | 15. Labores domésticas ligeras | [labores domésticas ligeras] |

La subpuntuación media para la Sección C se basó en las respuestas a cada uno de los componentes de la Sección C.

El cambio desde la línea de base de la puntuación total de WOMAC™ derivada de las 3 tres secciones de WOMAC (A, B y C) a todos los puntos de tiempo después de la primera inyección se analizó como punto final secundario.

40 **D. Estimación global de OA por el médico**

Después de que el paciente hubiera completado las estimaciones globales y el WOMAC™, el investigador evaluó la condición general de la rodilla del paciente en el momento de la visita en VAS de 100 mm que va de muy bueno (0 mm) a muy malo (100 mm). Esta evaluación estaba basada en los signos de enfermedad del paciente, capacidad funcional y examen físico. El médico recibió instrucciones en cuanto a indicar el estado general de la rodilla en el

momento de la visita usando una línea presentada con el extremo izquierdo ("0") de la línea que indica "muy bueno" y el extremo derecho ("100") de la línea que indica "muy malo"

E. Resultados

5 Los resultados que muestran una reducción del dolor (VAS; 0 que corresponde a ausencia de dolor y 100 a dolor extremado, dentro de las últimas 24 horas) a las 22 semanas después de la primera inyección en comparación con la línea de base como se presenta en la Tabla 1. El dolor cayó 34,9 mm en el grupo de 1 x 6 ml en comparación con 36,7 mm en el grupo de 3 x 2 ml, que fue el de mejor puntuación. En los grupos tratados con 1 x 4 o 2 x 4 ml, esta disminución fue menos espectacular (sólo una reducción de 24 mm).

Tabla 1. Autoestimación del dolor de OA por el paciente (cambio desde la línea de base)

Grupo	1 1 x 6 ml	2 1 x 4 ml	3 2 x 4 ml	4 3 x 4 ml	5 3 x 2 ml
Media	-34,9	-24,3	-24,0	-32,6	-36,7
Desv. Stand.	16,4	28,3	22,9	25,3	26,9
IC de 95%	-42,5, -27,2	-37,2, -11,5	-35,0, -13,0	-44,4, -20,8	-49,2, -24,1

10

Los criterios de valoración de eficacia secundarios incluidos la mejora del dolor, la rigidez y el empeoramiento funcional medidos por el Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC™) (Tabla 2 para WOMAC^{MC} A), por el paciente (Tabla 3) y el médico (Tabla 4), en estimaciones globales de OA en rodilla, presentaron las mismas tendencias. Los grupos de tratamiento se ordenaron en cuanto a la eficacia y los resultados se muestran en la Tabla 5. La prolongada duración del efecto observado en el grupo 1 fue sorprendente. En términos de seguridad, el 10% de los pacientes de cada grupo (1 x 6 ml y 3 x 2 ml) mostraron efectos locales adversos de la rodilla relacionados (dolor, hinchamiento o efusión) de intensidad mínima o moderada.

15

Tabla 2. Puntuación WOMAC™ de dolor (cambio de la línea de base)

Grupo	1 1 x 6 ml	2 1 x 4 ml	3 2 x 4 ml	4 3 x 4 ml	5 3 x 2 ml
Media	-25,8	-14,7	-16,6	-27,7	-25,6
Desv. típica	22,5	24,2	24,8	27,2	24,8
95% de CI	-36,3, -15,3	-25,7, -3,7	-28,5, -4,6	-40,5, -14,9	-37,1, -14,1

20

Tabla 3. Estimación global del paciente (cambio de la línea de base)

Grupo	1 1 x 6 ml	2 1 x 4 ml	3 2 x 4 ml	4 3 x 4 ml	5 3 x 2 ml
Media	-31,3	-14,3	-19,8	-25,9	-24,4
Desv. típica	26	31	24	32,9	32,3
95% de CI	-43,4, -19,1	-28,4, -0,2	-31,2, -8,2	-41,3, -10,5	-39,5, -9,3

25

Tabla 4. Estimación global del médico (cambio de la línea de base)

Grupo	1 1 x 6 ml	2 1 x 4 ml	3 2 x 4 ml	4 3 x 4 ml	5 3 x 2 ml
Media	-30,7	-16,8	-22,9	-25,9	-27,7
Desv. típica	18,3	24,8	26,9	25,0	29,6
95% de CI	-39,5, -21,9	-28,1, -5,5	-35,8, -10,0	-37,5, -14,2	-41,6, -13,8

Tabla 5. Puntuaciones del grupo de tratamiento

Grupo	1 1 x 6 ml	2 1 x 4 ml	3 2 x 4 ml	4 3 x 4 ml	5 3 x 2 ml
Pt. de dolor	2	4	5	3	1
Pt. global	1	5	4	2	3
Fis. global	1	5	4	3	2
WOMAC TM A	2	5	4	1	3
WOMAC TM B	4	5	3	2	1
WOMAC TM C	2	4	5	1	3

No se observaron grandes diferencias entre los grupos de tratamiento respecto a la seguridad, sólo que el Grupo 1 (1 x 6 ml) tenía generalmente los efectos menos adversos. Estos resultados sugieren también que se pueden administrar con seguridad volúmenes de Synvic® de más de 2 ml para reducir el dolor en pacientes con osteoartritis de la rodilla.

Ejemplo 2: Determinación de la semivida de residencia de Synvisc®

A. Incorporación de C¹⁴-acetato en el hialuronano de cultivos de órgano de cresta de gallo

Se sacrificaron por dislocación cervical gallos jóvenes (de 3-6 meses). Se limpiaron minuciosamente sus crestas con etanol (80%) y luego se cortaron con un escalpelo. Se quitó de la cresta el exceso de sangre y se puso en solución salina estéril, se transfirió a una campana de flujo laminar y se enjuagó en tres volúmenes adicionales de solución salina. La cresta se diseccionó a lo largo de la línea vascular central y se extirparon segmentos rectangulares de tejido dérmico rosa. Los segmentos rectangulares se cortaron en rebanadas finas con un escalpelo y se pusieron en medio HL-1 Venterx (Venterx Labs.), 5 mg/ml de propionato de testosterona (Belmar Laboratories, Inwood, NY), 20 µCi/ml de ácido C¹⁴-acético (ICN Radiochemicals, Irvine, CA, 1 mCi/ml), 0,1 mg/ml de penicilina, 0,1 mg/ml de estreptomina y 0,1 mg/ml de fungizona (Hazelton, Lenexa, KS). Se hicieron cultivos individuales en discos Petri de plástico de 60 mm y contenían aproximadamente 1,5 g de tejido de cresta y 15 ml del medio. Los cultivos se incubaron durante 72 horas en un entorno con 5% de CO₂, después de lo cual se separó el tejido del medio por centrifugación durante 10 min a 10.000 g. El pellet de tejido se congeló en un disco Petri de 30 mm. El tejido de cresta radiomarcado congelado se mantuvo típicamente en el congelador durante 1-72 horas antes de continuar el procedimiento para preparar hllano.

B. Preparación de líquido de hilano radiomarcado

Se prepararon fibras de hilano A como sigue. Se pusieron rebanadas de tejido de cresta radiomarcado en un medio de reacción que contenía acetona, formalina (solución de formaldehído al 37%), cloroformo y acetato sódico en una proporción de 0,75 g de tejido por 1 g de medio de reacción. Se dejó que la reacción transcurriera durante 18-20 horas, y después se cosecharon las rebanadas de tejido, se lavaron tres veces con acetona y luego se secaron en una campana de flujo laminar. Se añadieron luego cuatro volúmenes de agua destilada a las rebanadas de tejido seco con el fin de extraer hilano radiomarcado. La extracción acuosa se realizó a 4-6°C, después de lo cual se eliminó el extracto acuoso y se añadió un volumen idéntico de agua para una segunda extracción. Se disolvió acetato sódico sólido en los extractos acuosos a una concentración de 1% y se precipitaron las fibras de hilano por

adición lenta a 4 volúmenes de etanol al 95%. Las fibras de hilano radiomarcadas se lavaron dos veces en acetona y se almacenaron en acetona fría.

5 Se reunieron las fibras de hilano A radiomarcadas (40,3 mg) y se disolvieron en 3,0 ml de solución salina estéril tamponada con fosfato (Biltrics Inc., Ridgefield, NJ, lote 122-1) mezclando lentamente finalmente durante 3 días a 4°C. Después de disolución completa, el líquido de hilano se diluyó cinco veces con líquido de hilano no marcado. La mezcla se mantuvo durante 5 días más en la mezcla final a 4°C.

C. Preparación de gel radiomarcado

10 Se mezcló agua tritiada (New England Nuclear, 100 mCi/ml) en la mezcla de reacción usada para reticular líquido de hilano (hilano A) en gel de hilano hilano B). La reacción de reticulación se condujo como sigue. Se dejó que se hincharan fibras de hilano A en agua tritiada durante aproximadamente tres horas. Se añadió hidróxido sódico concentrado y la mezcla se agitó vigorosamente hasta que se homogeneizó la solución (aprox. 15 min). Se diluyó divinilsulfona a una concentración de 50% y se añadió a la mezcla de reacción agitando vigorosamente. Se dejó en reposo la mezcla de reacción a temperatura ambiente (22°C) durante 55 minutos más, tiempo en que las cadenas de polisacárido fueron reticuladas por divinilsulfona en gel polímero continuo (gel de hilano). Realizando esta
15 reacción en agua tritiada, el tritio se une covalentemente a carbono dentro del retículo de divinilsulfonilo. La reacción se terminó añadiendo diez volúmenes de solución salina estéril exenta de pirógenos para rebajar el pH por debajo de 12. El lavado con solución salina también da por resultado un hinchamiento del gel de hilano a su hidratación de equilibrio. El gel de hilano se lavó con solución salina para eliminar divinilsulfona sin reaccionar, tritio sin reaccionar y otros productos de reacción, y para rebajar el pH por debajo de 7. Se separó por filtración el exceso
20 de solución salina del gel, después de lo cual se hizo pasar el gel 5 veces a través de una aguja de 25 g para disgregar el gel sólido en una forma fácilmente inyectable. En esta forma el gel tritiado se dializó exhaustivamente frente a solución salina estéril exenta de pirógenos para eliminar tritio no unido por covalencia.

D. Preparación de una mezcla de gel de hilano-líquido de hilano

25 Se añadió gel de hilano tritiado (3,04 g) directamente a 11,63 g de líquido de C¹⁴-hilano y la mezcla se puso en una mezcladora Glen Mills durante 48 horas. La mezcla se hizo pasar luego 10 veces a través de agujas de 18 g, 21 g y 25 g sucesivamente para asegurar homogeneidad y facilidad de inyección.

E. Medidas de la concentración de HA y cantidades radiomarcadas

30 La concentración de polisacárido de hilano en el gel y los componentes líquidos de la mezcla se determinaron por el procedimiento de carbazol automatizado para el ensayo de su monómero (3) repetido de ácido glucurónico y multiplicando por (2,07) para tener en cuenta el resto de la cadena de polisacárido. Se hidrolizó el gel de hilano antes de la determinación del ácido glucurónico añadiendo muestras pesadas de 0,1 g del gel a 0,2 ml de H₂SO₄ 1N en tubos con rosca en la parte superior de cierre hermético, y dejando que la hidrólisis del ácido procediera durante 2 horas a 100°C. Las muestras, que se solubilizaron completamente por este procedimiento, se neutralizaron con 0,2 ml de NaOH 1N antes de analizar HA por el procedimiento del carbazol.

35 El procedimiento del carbazol implica medir la cantidad de ácido hexurónico (ácido glucurónico) de la muestra. Un método para determinar la concentración de ácido hexurónico por colorimetría está descrito por Dische y otros (1947) J. Biol. Chem., 167: 189-198. El método está basado en la reacción de color de ácidos hexurónico con ácido sulfúrico y carbazol. Un método actualizado, automático, para la determinación de ácidos hexurónicos fue publicado por Balazs y otros (1965) Anal. Biochem., 12:547-558. Las muestras se calientan en un medio de ácido sulfúrico/borato y se hacen reaccionar con carbazol. El carbazol reacciona con el ácido hexurónico formando un complejo rosa con un máximo de absorbancia a 530 nm. Para el método automatizado, las muestras y los patrones se aspiran a través de un analizador de flujo continuo usando una bomba peristáltica. Se añaden los reactivos (ácido y carbazol) y se calientan en una cámara de reacción, y se lee la absorbancia con un colorímetro de flujo continuo a 530 nm.

45 El contenido de radiactividad del artículo de ensayo se determinó por recuento de centelleo en un contador de centelleo de líquidos ISOCAP 300 (Nuclear Chicago) usando como generador de centelleo Scintverse Bil HP (Fisher Scientific). Los datos de CPM en bruto se convirtieron en DPM usando un programa de relación de patrones externos ISOCAP 300, con normalización frente a patrones de enfriamiento de centelleo de tritio líquido, o patrones de enfriamiento de centelleo de líquido de carbono 14 (Amergham, Arlington Heights, IL).

F. Determinación de semivida de residencia de Synvisc®

55 El aclaramiento de Synvisc® y su gel y componentes líquidos de la articulación de la rodilla se determinó en conejos New Zealand blancos de un peso entre 2,5 y 3,5 kg. Los conejos se sacrificaron a las 24 horas, 3, 7 y 26 días, respectivamente. El material radiactivo preparado esencialmente como se ha descrito antes se administró como inyección intraarticular de 0,3 ml (0,086 ml/kg de peso corporal). Este nivel de dosificación se supone que es equivalente a una administración única de 6 ml de Synvisc® a un ser humano de 70 kg. Las cantidades

correspondientes a administrar a otros animales son probablemente directamente proporcionales al peso del animal.

5 Los DPM se obtuvieron para cada tejido como se ha expuesto antes y DPM/mg se calculó directamente cuando era apropiado. Los DPM totales obtenidos en ambos DPM y DPM/mg para cada tejido de la unión se calcularon separadamente para cada animal. Luego se promediaron estos valores para cada punto de tiempo y se expresaron como media \pm error estándar de la media. Las medias calculadas se expresaron a un mínimo de dos dígitos significativos, incluso en situaciones en las que los valores eran pequeños y la variación de animal a animal era grande. El DPM medio total recuperado de la unión en cada punto de tiempo se calculó promediando los totales de animal individual.

10 Las determinaciones de semivida se hicieron ajustando las medias para cada tiempo a una función exponencial ($Y = Ae^{kx}$). El error estándar del estimado se obtuvo del ajuste de la curva y se dividió por A, obteniéndose el error porcentual esperado. Éste se multiplicó por la semivida para obtener el error esperado de la semivida.

G. Resultados

15 El componente gel (hilano B) es el resto de semivida más largo. Sobre la base del aclaramiento del material radiactivo, la semivida de residencia del componente se determinó que era de 7,7-8,8 días. Así, el día 30 más del 95% del gel estaría aclarado. Se realizaron cálculos teóricos basados en la semivida del gel determinada experimentalmente para estimar la cantidad de gel que se esperaba que estuviera en la articulación humana después de una inyección única de 6 ml. Suponiendo que aproximadamente 6 mg de gel se inyectaron en la rodilla de un sujeto humano, a los 21 días después de la inyección, la cantidad de gel que quedaría sería de aproximadamente 0,9 mg.

20 El componente líquido de Synvisc® (hilano A) se clarifica más rápidamente que el componente de gel. La semivida del componente líquido se determinó que era de 1,2-1,5 días. A los 7 días, 99% del material inyectado se había clarificado de la articulación de la rodilla del conejo.

25 También se realizaron estudios sobre implantes de músculo de conejo. El examen microscópico los días 7 y 30 después del implante no detectó material de ensayo residual, lo que es congruente con los estudios de aclaramiento intraarticular.

30

35

40

45

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un viscosuplemento que comprende hialuronano (HA) reticulado para uso en el tratamiento de un dolor de la articulación de la rodilla en un sujeto humano mediante un régimen de tratamiento, viscosuplemento que tiene una semivida de residencia en la articulación de menos de 3 semanas, y comprendiendo el régimen de tratamiento una única administración intraarticular del viscosuplemento en una cantidad suficiente para proporcionar a la articulación de la rodilla un efecto terapéutico durante hasta seis meses.
- 10 2. Uso de un viscosuplemento que comprende hialuronano (HA) reticulado en la fabricación de un medicamento para tratar el dolor de la articulación de la rodilla en un ser humano mediante un régimen de tratamiento, en el que el viscosuplemento tiene una semivida de residencia en la articulación de menos de 3 semanas, y en el que el régimen de tratamiento comprende una única administración intraarticular del viscosuplemento en una cantidad suficiente para proporcionar a la articulación de la rodilla un efecto terapéutico durante hasta seis meses.
- 15 3. El viscosuplemento para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el uso de la reivindicación 2, en el que se trata el dolor de la articulación de la rodilla asociado con osteoartritis.
4. El viscosuplemento para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el uso de la reivindicación 2, en el que el viscosuplemento contiene menos de 20 mg/ml de HA, y 5% (p/p) o más de HA del viscosuplemento está en forma de gel.
5. El viscosuplemento para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el uso de la reivindicación 2, en el que el HA del viscosuplemento es de origen animal.
- 20 6. El viscosuplemento para uso de acuerdo con la reivindicación 1 o el uso de la reivindicación 2, en el que el HA del viscosuplemento es de origen bacteriano.

25

30

35

40

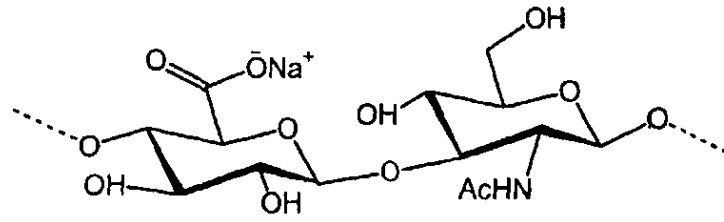


FIG. 1