(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 449 071**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/7008 (2006.01)
A61K 31/737 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.12.2008** **E 08868336 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2013** **EP 2252302**

(54) Título: **Composición para el tratamiento de la osteoartritis**

(30) Prioridad:

28.12.2007 ES 200703459

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.03.2014

(73) Titular/es:

BIOIBÉRICA, S.A. (100.0%)
Plaza Francesc Macià, 7
08029 Barcelona, ES

(72) Inventor/es:

ESCAICH FERRER, JOSEP;
TORRENT GIBERT, ANA MARÍA;
RUHI ROURA, RAMÓN y
DALMAU CASTAÑARES, PERE

(74) Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 449 071 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

Composición para el tratamiento de la osteoartritis

Sector técnico de la invención

La presente invención se refiere a nuevas composiciones que comprenden sulfato de condroitina y un aminoazúcar. De igual modo, la presente invención se refiere al uso de la composición en medicina.

Antecedentes de la invención

La osteoartritis (artrosis), es una enfermedad degenerativa articular que afecta a la mayoría de las personas a partir de los 65 años de edad, y que se caracteriza por una paulatina degradación del tejido cartilaginoso, unida a la presencia de inflamación y dolor. La inflamación sinovial normalmente se presenta más tarde, cuando la enfermedad está en estado avanzado, y generalmente, sólo es un componente secundario en la patología osteoartrítica.

La osteoartritis se puede definir como la degeneración del cartílago hialino articular. Un efecto secundario a éste es la afectación de la membrana sinovial y el hueso subcondral (hueso en contacto con el cartílago), así como la formación de hueso nuevo en los márgenes de las superficies de la articulación.

El cartílago permite que los huesos se muevan deslizándose unos sobre otros. También absorbe la tensión que produce el movimiento físico. En la osteoartritis, la superficie del cartílago se rompe y desgasta causando que los huesos se muevan unos contra otros, produciendo fricción, dolor, hinchazón y pérdida de movimiento en la articulación. Con el paso del tiempo la articulación puede deformarse.

En condiciones normales, la renovación del cartílago es un proceso muy lento que consiste en una constante síntesis (anabolismo) y degradación (catabolismo) de los componentes de la matriz extracelular. El condrocito es la célula responsable de este metabolismo, proceso que debe estar perfectamente coordinado.

Aunque se desconoce todavía la etiología de la osteoartritis, actualmente se acepta como cierto que las primeras alteraciones se producen a nivel de condrocito, alteraciones que posteriormente darán origen a la aparición de una articulación osteoartrítica.

Se han descrito una serie de factores de riesgo para la aparición de la enfermedad, entre estos se encuentran: el envejecimiento, la herencia, la obesidad, los trastornos por sobrecarga, los sobreesfuerzos físicos en deportistas, las lesiones o traumatismos, la actividad laboral y la baja densidad mineral ósea.

La osteoartritis es una enfermedad que no tiene un tratamiento definitivo. Resaltaremos las siguientes posibilidades terapéuticas actuales:

Los fármacos de acción sintomática que actúan de forma rápida. Entre estos se encuentran: los analgésicos, los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), los corticoides y los inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa 2 (COX-2). El uso de algunos de ellos conlleva un alto riesgo de efectos secundarios potencialmente graves, como son los problemas gastrointestinales en el caso de los AINEs.

Los fármacos de acción sintomática que actúan de forma algo más lenta. Son conocidos como SYSADOA (Symptomatic Slow Acting Drug for Osteoarthritis) (M.G. Lequesne, *Rev. Rhum.* (Eng./Ed.), *61*, 69-73 (1994); B.F. Leeb *et al.*, *J. Rheumatol.*, *27*, 205-211 (2000)). Entre estas sustancias se encuentran: el ácido hialurónico, el sulfato de condroitina y el clorhidrato de glucosamina. Este grupo se caracteriza por presentar una eficacia global similar a los AINEs y, además, como ventajas adicionales, una mayor seguridad y una acción más prolongada en el tiempo, incluso durante algunos meses después de la suspensión del tratamiento (efecto *carry over* o remanente). Algunos ensayos clínicos realizados con ácido hialurónico (M. Dougados *Semin. Artritis. Rheum.*, *30*(2 Suppl 1), 19-25 (2000)) y sulfato de condroitina (D. Uebelhart *et al.*, *Osteoarthritis Cart.*, *12*, 269-276 (2004)). han puesto en evidencia la posibilidad de que ambos compuestos, además de actuar como SYSADOA, puedan influir en el curso de la enfermedad osteoartrítica, frenando o retrasando la enfermedad como fármacos S/DMOAD (Structure/Disease Modifying anti-Osteoarthritis Drug).

Los ligamentos y los tendones son estructuras periarticulares que presentan una capacidad limitada de auto-reparación, especialmente en personas adultas.

Las propiedades funcionales y estructurales de los tendones y de los ligamentos son muy similares. Los tendones son estructuras anatómicas que unen músculos a huesos y los ligamentos son estructuras similares que unen huesos a otros huesos. Ambas son estructuras cilíndricas, elongadas, formadas de tejido conjuntivo denso y adaptadas a la tensión en una dirección, con fibras de colágeno paralelas (principalmente colágeno tipo I). La reducida vascularización de dichos tejidos es una de las causas de la lenta curación de tendones y ligamentos.

Las células predominantes en los tendones se llaman tenocitos. Los tenocitos tienen la función de mantener la estructura de la matriz a través de procesos de degradación y síntesis. Sin embargo, el tendón tiene una densidad relativamente baja de células y con poca actividad mitótica, lo cual explica la reducida tasa de recambio de este tejido y cuestiona el grado en que estas células pueden promover la curación intrínseca.

Los daños en tendones y ligamentos son causados por diversos factores, entre los que se incluyen las lesiones por la práctica de deportes o accidentes, distensiones, posturas incorrectas, infecciones bacterianas, reacciones medicamentosas, artritis en una articulación, y como consecuencia de diversas enfermedades.

La curación por debajo del nivel óptimo, el largo período de rehabilitación y una elevada incidencia de recaída hacen que las lesiones de tendones y ligamentos sean difíciles de tratar adecuadamente.

Entre los tratamientos farmacológicos más frecuentes de las tendinopatías (enfermedades de los tendones) y desmopatías (enfermedades de los ligamentos) se encuentran los siguientes: descanso, terapia física (ejercicios, masajes, ultrasonidos, láser, hidroterapia, calor y frío), suplementos nutricionales, cirugía y medicamentos, entre los que se encuentran los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), los glucocorticoides y los antibióticos, estos últimos en el caso de que la enfermedad haya sido causada por una infección. Es conocido que tanto los AINEs como los glucocorticoides presentan efectos secundarios. Además, publicaciones recientes ponen en duda la eficacia de los AINEs en la regeneración de tendones (D. Marsolais *et al*., "Nonsteroidal anti-inflammatory drug reduces neutrophil and macrophage accumulation but does not improve tendon regeneration", *Lab. Invest. 83(7)*, 991-999 (2003)).

En los últimos años se están llevando a cabo investigaciones acerca del tratamiento de tendinopatías y desmopatías con células madre, tenocitos, células de ligamento, factores de crecimiento o con genes.

La enfermedad del sistema inmune denominada artritis reumatoide es un trastorno inflamatorio crónico y progresivo, caracterizado por la aparición de sinovitis y una severa destrucción articular.

La patogénesis de la artritis reumatoide es un proceso complejo, que implica la proliferación celular y fibrosis a nivel de la membrana sinovial, la formación de pannus y la erosión del cartílago y el hueso. Este proceso se encuentra mediado por una red interdependiente de citoquinas, prostanoides y enzimas proteolíticos.

Los objetivos intermedios en el tratamiento de la artritis reumatoide son: controlar los síntomas inflamatorios, disminución del dolor, prevenir o controlar el daño articular y prevenir la pérdida de función, y el fin último del tratamiento es inducir la remisión completa de la enfermedad, aunque esto ocurre de forma infrecuente.

El sulfato de condroitina es un glicosaminoglicano sulfatado de origen natural, con una estructura polimérica caracterizada por un disacárido que se repite, constituido por *N*-acetil-D-galactosamina y ácido D-glucurónico. La mayoría de los residuos de *N*-acetil-D-galactosamina están sulfatados. El sulfato de condroitina es un componente fundamental del agrecano que se encuentra en el cartílago articular.

Se ha descrito el uso del sulfato de condroitina para tratar diversas enfermedades, por ejemplo, en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares (US 3,895,106) o en el tratamiento de la psoriasis (WO2005/014012), sin embargo, su uso más extendido es en el tratamiento de la osteoartritis (M.G. Lequesne, *Rev. Rhum*. Eng. Ed., *61*, 69-73 (1994); G. Verbruggen *et al*., *Osteoarthritis Cart*., *6* (Supplement A), 37-38 (1998)), generalmente mediante la administración de 800-1.200 mg al día.

Se han publicado resultados contradictorios sobre la utilidad del polisulfato de condroitina en el tratamiento de tendinopatías. Si bien algunos autores describen su efecto beneficioso (H. Sundqvist *et al*., *Int. J. Sports Med. 8*, 298-303 (1987)), otros sin embargo no encuentran diferencias significativas entre los tendones tratados y el grupo control (S.J. Dyson, *Equine Vet. J. 36(5)*, 415-419 (2004)).

La D-manosamina (2-amino-2-desoxi-D-manosa) es un aminoazúcar cuya utilización más extendida es en la síntesis del ácido siálico y derivados, debido a que el precursor fisiológico de los ácidos siálicos naturales es la *N*-acetilmanosamina. También se ha descrito la utilización de *N*-acilmanosaminas (*N*-acetil, *N*-propanoil, *N*-glicolil, *N*-formilmanosamina) en la modulación del crecimiento neuronal (WO 00/07602), y recientemente la utilización de *N*-acetilmanosamina para aumentar el nivel de las hormonas sexuales, particularmente de la testosterona (WO 2007/104576).

El aminoazúcar D-glucosamina (2-amino-2-desoxi-D-glucosa) es un substrato intermedio utilizado por el cartílago articular en la síntesis de glicosaminoglicanos y proteoglicanos.

Diversos grupos de investigación han estudiado los efectos del clorhidrato de glucosamina en la osteoartitis (por ejemplo, H. Nakamura *et al. Clin. Exp. Rheumatol*. *22* (3), 293-9, (2004)).

Existen documentos en los que se describen composiciones que comprenden sulfato de condroitina y aminoazúcares.

En US 5,587,363 se describe una composición que comprende sulfato de condroitina y glucosamina.

En EP 1354590 se reivindica un agente para tratar trastornos articulares que comprende un aminoazúcar y trehalosa. El agente puede contener además un glicosaminoglicano. En dicho documento se describen las mezclas de sulfato de condroitina y glucosamina con y sin trehalosa, y también la combinación de sulfato de queratano, manosamina y trehalosa, así como su actividad en un modelo de artritis inducida por colágeno tipo II. En el documento no se describe ni se sugiere la combinación del sulfato de condroitina con manosamina.

Por todo lo dicho, el problema en el que se basa la presente invención es el de proporcionar un tratamiento alternativo para la osteoartritis, las enfermedades periarticulares, en particular enfermedades de los tendones o de los ligamentos y las enfermedades del sistema inmune, en particular la artritis reumatoide.

Explicación de la invención

La presente invención se refiere a una composición que comprende sulfato de condroitina y un aminoazúcar, en la que el aminoazúcar se selecciona entre el grupo formado por manosamina, un derivado de la manosamina, así como sus mezclas, y en la que la relación en peso entre el sulfato de condroitina y el aminoazúcar está comprendida entre 1:0,1 y 1:2. En una realización preferida de la invención, la relación en peso varía entre 1:0,1 y 1:0,7.

En una realización preferida de la invención, el aminoazúcar es manosamina.

En otra realización igualmente preferida, el aminoazúcar es un derivado de la manosamina, preferiblemente *N*-acetilmanosamina.

En otra realización de la invención, el aminoazúcar es una combinación de manosamina y *N*-acetilmanosamina.

En otra realización de la invención, la composición además contiene glucosamina.

En una realización particular de la invención, la composición de la invención es una composición alimenticia. En otra realización la composición alimenticia es un alimento funcional. En otra realización la composición alimenticia es una composición nutracéutica, también denominada complemento alimenticio (food supplement). Los alimentos funcionales pueden incluir productos lácteos, leche, yogurt, cereales, galletas, zumos de fruta, zumos vegetales, alimento infantil y alimento deshidratado.

Otros componentes, tales como vitaminas, se pueden adicionar tanto a la composición alimenticia como a la farmacéutica.

La presente invención también se refiere a un procedimiento para preparar una composición definida anteriormente que comprende:

a) preparar una solución acuosa que comprende el sulfato de condroitina;
b) preparar una solución acuosa que comprende el aminoazúcar; y
c) mezclar las soluciones de las etapas a) y b); o bien

a) mezclar el sulfato de condroitina y el aminoazúcar en estado sólido;
b) tamizar y homogeneizar la mezcla.

Según otro aspecto de la invención, se da a conocer una composición definida anteriormente, para su uso como medicamento.

La presente invención también se refiere a una composición definida anteriormente para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad articular degenerativa, preferiblemente de osteoartritis.

La presente invención también se refiere a una composición definida anteriormente para su uso en el tratamiento o prevención de la inflamación o del dolor, preferiblemente asociado a osteoartritis.

En otra realización particular de la invención, dicha composición es un agente condroprotector.

La presente invención también se refiere a una composición definida anteriormente para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad, trastorno o lesión preriarticular, preferiblemente una enfermedad, desorden o herida de tendón o ligamento.

La presente invención también se refiere a una composición definida anteriormente para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad del sistema inmune, preferiblemente artritis reumatoide.

En otra realización particular de la invención, dicha composición está formulada para administración oral.

En otra realización particular de la invención, dicha composición está formulada para administración intra-articular.

La presente invención también se refiere al uso de una composición definida anteriormente, para la preparación de un medicamento para el tratamiento, prevención o profilaxis de una enfermedad articular degenerativa, preferiblemente de la osteoartritis.

La presente invención también se refiere al uso de una composición definida anteriormente, para la preparación de un medicamento para el tratamiento, prevención o profilaxis de la inflamación o del dolor. Preferiblemente la inflamación y el dolor están asociados a la osteoartritis.

En otra realización particular de la invención, el medicamento es un condroprotector.

También es posible utilizar una composición definida anteriormente, para la preparación de un medicamento para el tratamiento, prevención o profilaxis de una enfermedad, trastorno o lesión periarticular. Preferentemente la enfermedad, trastorno o lesión periarticular es una enfermedad, trastorno o lesión de tendón o ligamento, preferiblemente seleccionada de entre el grupo que consiste en tendinosis, tendinitis (tendonitis), tendinitis reumatoide, peritendinitis, tenosinovitis, paratenonitis, y cualquier desmopatía. Igualmente, la enfermedad, trastorno o lesión periarticular puede ser el resultado de un traumatismo, un sobreuso o un estado patológico, por ejemplo una enfermedad infecciosa, metabólica o endocrina.

Igualmente, el medicamento que contiene la composición de la invención se puede utilizar en el tratamiento de la inflamación y del dolor asociados a una enfermedad, trastorno o lesión periarticular.

La presente invención también se refiere al uso de una composición definida anteriormente, para la preparación de un medicamento para el tratamiento, prevención o profilaxis de una enfermedad del sistema inmune, seleccionada entre el grupo que consiste en artritis reumatoide, lupus eritematoso, enfermedad de Graves, síndrome de Reiter y síndrome de Sjogren. De entre ellas, la enfermedad del sistema inmune más preferida es la artritis reumatoide.

Preferiblemente, el medicamento se adapta para administración oral, intraarticular, intralesional, perilesional, o para administración en un implante. Además en el caso de que la enfermedad sea una enfermedad periarticular el medicamento se puede adaptar para administración tópica a un tendón o ligamento expuesto.

Cuando en la presente invención se habla de administración intralesional, se hace referencia a la administración directa en la propia lesión.

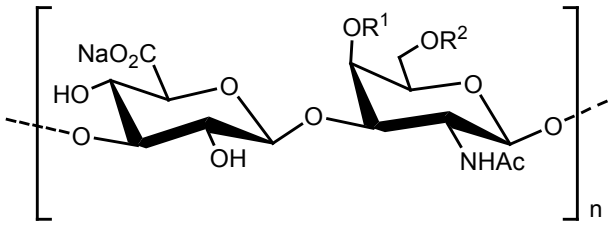
Cuando en la presente invención se habla de administración perilesional, se hace referencia a la administración alrededor de la lesión.

Las composiciones alimenticias de la presente invención actúan nutriendo el cartílago, protegiendo las articulaciones, mejorando la capacidad funcional, la elasticidad y la flexibilidad articular y también presentan un efecto de prevención y reversión del síndrome de sobreesfuerzo físico en deportistas, y de los efectos no deseables asociados al mismo.

El sulfato de condroitina, componente de las composiciones de la presente invención, es un glicosaminoglicano sulfatado de peso molecular comprendido entre 10.000 daltons y 60.000 daltons, dependiendo de la procedencia y procedimiento de obtención. Se puede obtener a partir de tejidos cartilaginosos de animales, tales como tráqueas de ganado bovino o porcino y esqueleto cartilaginoso de tiburón, siguiendo procedimientos descritos en la literatura (ES 547769).

Su estructura polimérica se caracteriza por un disacárido que se repite, constituido por *N*-acetil-D-galactosamina y ácido D-glucurónico. La mayoría de los residuos de *N*-acetil-D-galactosamina están sulfatados.

El sulfato de condroitina que procede del tejido cartilaginoso se encuentra principalmente en dos formas isoméricas, que difieren en la posición del grupo sulfato presente en el residuo de *N*-acetilgalactosamina, el 4-sulfato de condroitina (sulfato de condroitina A) y el 6-sulfato de condroitina (sulfato de condroitina C), los cuales se representan por la siguiente estructura:



$R^1 = SO_3^-Na^+$, $R^2 = H$

$R^2 = SO_3^-Na^+$, $R^1 = H$

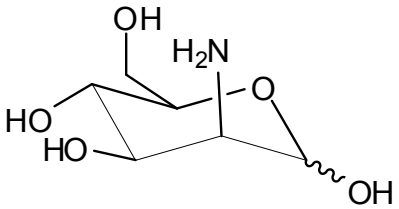
Además del 4-sulfato de condroitina y del 6-sulfato de condroitina, el término sulfato de condroitina también incluye los siguientes compuestos:
sulfato de condroitina B, también conocido como sulfato de dermatano;
sulfato de condroitina D, conocido como 2,6-disulfato de condroitina;
sulfato de condroitina E, conocido como 4,6-disulfato de condroitina.

En la presente invención el término “sulfato de condroitina” abarca todos estos compuestos, así como sus mezclas.

En el sulfato de condroitina, el grupo sulfato está covalentemente unido al azúcar.

Debido a las cargas negativas presentes en la molécula, el sulfato de condroitina se encuentra en forma de sal, por ejemplo en preparaciones comerciales el sulfato de condroitina está en forma de sal de sodio. Así pues, el término “sulfato de condroitina” incluye las sales orgánicas e inorgánicas del mismo. Ejemplos de sales orgánicas incluyen, por ejemplo, las sales de etanolamina, trietanolamina y con aminoácidos básicos. Ejemplos de sales inorgánicas incluyen, por ejemplo, las sales de sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio, litio y aluminio. Generalmente, dichas sales se preparan, por ejemplo, haciendo reaccionar el sulfato de condroitina en forma de base libre con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado en agua o en un solvente orgánico o en una mezcla de ambos.

La D-manosamina (2-amino-2-desoxi-D-manosa) es un aminoazúcar con la siguiente estructura:



En la presente invención el término “manosamina” incluye las sales de manosamina.

Preferentemente, los aminoazúcares manosamina, derivados de la manosamina, tal como la *N*-acetilmanosamina, glucosamina y sales de los mismos utilizados en la presente invención son de la serie D.

Dichos aminoazúcares pueden existir en formas anoméricas α y β. La presente invención incluye la utilización tanto de los anómeros individuales α y β separados como de sus mezclas.

Las sales de manosamina con ácidos farmacéuticamente aceptables, incluyen, sin límite, las sales con los siguientes ácidos: ácido clorhídrico, yodhídrico, bromhídrico, fosfórico, sulfúrico, metanosulfónico, acético, fórmico, tartárico, maleico, cítrico, succínico, láctico, glucónico, pirúvico, fumárico, propiónico, aspártico, glutámico, benzoico, ascórbico, glucurónico y málico.

Las sales de manosamina se pueden preparar siguiendo procedimientos estándares de preparación de sales de aminoazúcares.

Generalmente, dichas sales se preparan, por ejemplo, haciendo reaccionar la manosamina base, obtenida a partir del clorhidrato de manosamina, con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado.

El clorhidrato de manosamina es un producto comercial (NZP, New Zealand Pharmaceutical), pero si se desea se puede preparar mediante la epimerización de la *N*-acetilglucosamina con una disolución acuosa de $Ca(OH)_2$ seguida de separación de los isómeros, tratamiento con ácido clorhídrico, decoloración y precipitación o cristalización con disolventes (Sugai *et al*., *Bull. Chem. Soc. Jpn*., *68*, 3581-3589 (1995); Sugai *et al*., *Tetrahedron*, *53 (7)*, 2397-2400 (1997)).

La *N*-acetilmanosamina es un producto comercial (NZP, New Zealand Pharmaceutical) pero si se desea se puede obtener mediante acetilación a partir del clorhidrato de manosamina. Otra *N*-acilmanosamina que se puede utilizar es, por ejemplo, la *N*-propanoil-D-manosamina.

En la presente invención el término “glucosamina” incluye las sales de glucosamina.

Las sales de glucosamina con ácidos farmacéuticamente aceptables, incluyen, sin límite, las sales con los siguientes ácidos: ácido clorhídrico, yodhídrico, bromhídrico, fosfórico, sulfúrico y metanosulfónico.

Para utilizar en el tratamiento, prevención o profilaxis de una enfermedad articular degenerativa, de la inflamación, del dolor, de una enfermedad, trastorno o lesión periarticular, o de una enfermedad del sistema inmune, las composiciones de la invención se formulan en composiciones farmacéuticas adecuadas, recurriendo a técnicas y excipientes o vehículos convencionales, como los descritos en *Remington: The Science and Practice of Pharmacy 2000, edited by Lippincott Williams and Wilkins, 20th edition, Philadelphia.*

La naturaleza de la formulación farmacéutica dependerá, como es bien sabido, de la vía de administración y de la naturaleza de la patología a tratar.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden administrarse al paciente en dosis requeridas. La administración de las composiciones puede efectuarse por diferentes vías, por ejemplo, oral, intravenosa, intraperitoneal, intraarticular, intralesional, perilesional, intratendinosa, peritendinosa, intratecal, subcutánea, intramuscular, tópica, sublingual, intradermal o intranasal. Las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen una cantidad terapéuticamente eficaz de la composición activa de la invención, dependiendo dicha cantidad de muchos factores, como por ejemplo, el estado físico del paciente, edad, sexo, vía de administración, gravedad de los síntomas y de otros factores bien conocidos en la técnica. Además, se entenderá que dicha dosificación de composición activa puede administrarse en unidades de dosis única o múltiple para proporcionar los efectos terapéuticos deseados.

Las preparaciones farmacéuticas de la invención generalmente estarán en forma sólida, líquida o como gel. Entre las preparaciones farmacéuticas en forma sólida que pueden prepararse de acuerdo con la presente invención se incluyen polvos, minigránulos (pellets), microesferas, nanopartículas, comprimidos, gránulos dispersables, cápsulas, sellos y supositorios. Entre las preparaciones en forma líquida se incluyen soluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes y elixires que contienen diluyentes inertes comúnmente utilizados, tales como agua destilada, etanol, sorbitol, glicerol o propilenglicoles. Se contemplan también las preparaciones de formas sólidas que se desean convertir, inmediatamente antes de ser utilizadas, en preparaciones en forma líquida. Dichas formas líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones.

Para preparar las composiciones alimenticias (alimentos funcionales o composiciones nutracéuticas), las composiciones de la invención se formulan con componentes y/o excipientes adecuados empleados en nutrición. Las composiciones alimenticias preparadas pueden estar, por ejemplo, en forma sólida, líquida, emulsión, suspensión o como gel. También se contemplan las preparaciones en forma sólida que se puedan convertir, antes de ser utilizadas, en preparaciones en forma líquida o en suspensiones.

De acuerdo con la presente invención se ha encontrado que las composiciones de la invención presentan ventajas, tales como: (i) la composición de la invención que contiene sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina es más eficaz que cada uno de los componentes por separado; (ii) existe un efecto sinérgico entre el sulfato de condroitina y el clorhidrato de manosamina cuando se administran conjuntamente; (iii) la composición de la invención, hecha de una mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina es signifantemente más efectiva que la composición de hecha de una mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de glucosamina (efecto superior en la síntesis de proteoglicanos); (iv) la composición de la invención que contiene sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina induce una reducción de apoptosis de condrocitos cultivados con TNFα dependiente de la dosis.

Breve descripción de las figuras

En la Figura 1 se representa la actividad condroprotectora de un grupo control blanco, un grupo control operado, un grupo operado tratado con sulfato de condroitina, un grupo operado tratado con clorhidrato de manosamina y un grupo operado tratado con la composición constituida por una mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina.

La Figura 2 muestra el efecto de la composición de la invención formada por una mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina y la composición formada por una mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de glucosamina en la síntesis de proteoglicanos, determinado como contenido GAC.

La Figura 3 muestra el efecto de la composición de la invención formada por una mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina y la composición formada por una mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de

glucosamina en apoptosis de condrocitos, medido como actividad de Caspasa-3/7 y mostrado en RFU (unidades de fluorescencia relativa).

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Los siguientes ejemplos, ilustran, pero no limitan, el ámbito de la presente invención.

A continuación se citan algunos ejemplos de formulaciones representativas para comprimidos y preparaciones inyectables.

Ejemplo 1: Comprimidos de sulfato de condroitina y manosamina o *N*-acetilmanosamina

Los comprimidos se prepararon siguiendo procedimientos convencionales.

Contenido de principios activos por comprimido:

Sulfato de condroitina, sal sódica	400,0 mg
Clorhidrato de manosamina o *N*-acetilmanosamina	400,0 mg

Ejemplo 2: Comprimidos de sulfato de condroitina, manosamina y *N*-acetilmanosamina

Los comprimidos se prepararon siguiendo procedimientos convencionales.

Contenido de principios activos por comprimido:

Sulfato de condroitina, sal sódica	400,0 mg
Clorhidrato de manosamina	200,0 mg
N-acetilmanosamina	200,0 mg

Ejemplo 3: Comprimidos de sulfato de condroitina, manosamina y glucosamina

Los comprimidos se prepararon siguiendo procedimientos convencionales.

Contenido de principios activos por comprimido:

Sulfato de condroitina, sal sódica	400,0 mg
Clorhidrato de manosamina	200,0 mg
Clorhidrato de glucosamina	200,0 mg

Ejemplo 4: Inyectable de sulfato de condroitina y manosamina o *N*-acetilmanosamina

Se prepararon 2 mL de formulación inyectable siguiendo procedimientos convencionales.

Contenido de principios activos por mL:

Sulfato de condroitina, sal sódica	75 mg/mL
Clorhidrato de manosamina o *N*-acetilmanosamina	75 mg/mL

A continuación se citan algunos ejemplos de ensayos que se pueden utilizar para determinar la actividad de las composiciones de la presente invención.

Ejemplo 5: Evaluación de la actividad condroprotectora *in vivo* de la combinación de sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina

El objetivo era evaluar la actividad condroprotectora (actividad protectora del cartílago) de una composición constituida por una mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina como únicos componentes activos, en un modelo de osteoartritis experimental inducida por meniscectomía medial parcial en cobaya (A.M. Bendele, *Progressive chronic osteoarthritis in femorotibial joints of partial medial meniscectomized guinea pigs, Vet. Pathol. 24*, 444-448 (1987)), comparando dicha actividad con la actividad condroprotectora del sulfato de condroitina y del clorhidrato de manosamina.

Materiales y métodos

Se utilizaron Cobayas Dunkin Hartley (DH) de peso comprendido entre 580 y 699 g. A una parte de ellos se les practicó una meniscectomía medial parcial.

Se formaron los siguientes grupos de tratamiento: control blanco (correspondiente a cobayas sanos), control operado (correspondiente a cobayas a los que se les practicó una meniscectomía medial parcial para inducirles una osteoartritis experimental), cobayas operados a los que se administró la sal de sodio del sulfato de condroitina (95 mg/kg de cuerpo peso/día), cobayas operados a los que se administró clorhidrato de manosamina (60 mg/kg de

cuerpo peso/día), cobayas operados a los que se administró una mezcla de sal de sodio de sulfato de condroitina (95 mg/kg de cuerpo peso/día) y clorhidrato de manosamina (60 mg/kg de cuerpo peso/día).

Al día siguiente de la operación, se inició la administración diaria de los tratamientos correspondientes por vía oral mediante sondaje gástrico, siendo el vehículo utilizado agua para inyección. Los grupos control blanco y control operado recibieron únicamente el vehículo (agua para inyección) por vía oral.

Los tratamientos se administraron una vez al día durante 70 días (diez semanas). Dos veces por semana se registró el peso corporal y los signos clínicos de los animales. No se observaron signos clínicos destacables a lo largo del período de tratamiento.

El día siguiente de haber terminado la administración, los animales fueron sacrificados por sobredosis anestésica (pentobarbital sódico) y se extrajo la articulación femorotibial de la pata posterior derecha para su fijación en formol al 10% durante un mínimo de 48 horas. A continuación se descalcificaron, se incluyeron en parafina, se obtuvieron los cortes necesarios y se realizaron las tinciones con Hematoxilina-Eosina y Safranin-O-Fast Green (o Azul de Toluidina) para su evaluación histológica, la cual la realizó el patólogo de forma ciega.

La severidad de las lesiones osteoartríticas se evaluó mediante la escala histológica/histoquímica de Mankin *et al.* modificada (HJ. Mankin and L. Lipiello *Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips*. *J. Bone Joint Surg.-Amer*. *53-A*, 523-537 (1971)).

La escala evalúa la severidad de las lesiones osteoartríticas basándose en la pérdida de contenido en glicosaminoglicanos (GAGs), cambios de estructura y cambios celulares. Mediante el sistema de gradación de Mankin se puede obtener un valor global histopatológico (*total global histopathological score*), para cada animal suma de varios parámetros: pérdida de GAGs, estructura del cartílago, pérdida de condrocitos, formación de clones e integridad de la línea.

La evaluación de la cantidad de glicosaminoglicanos (GAGs) se realizó mediante 2 tinciones: Azul de Toluidina y Safranina O-Fast Green. La pérdida de intensidad de color rojo con Safranina (o color azul con Azul de Toluidina) indica una pérdida de proteoglicanos, que se observa con los cambios degenerativos del cartílago.

La tinción con Hematoxilina-Eosina se utiliza para evaluar los cambios en la estructura del cartílago y cambios a nivel celular.

Se realizaron dos tipos de evaluaciones de los datos obtenidos:

Actividad condroprotectora

A partir de los resultados obtenidos con la tinción con Azul de Toluidina y con Hematoxilina-Eosina se llevó a cabo el cálculo de la actividad condroprotectora.

Para el cálculo de la actividad condroprotectora, primero se obtuvo el índice de incidencia de cada parámetro ($I_{parámetro}$) multiplicando el valor de la puntuación descrita (P_i) por el número de animales que la presentan (n_i). Puesto que los tamaños de cada grupo no son iguales, se estandarizaron dividiendo por el número total de individuos del grupo y multiplicando por 100:

$$I_{parámetro} = \frac{\Sigma (n_i \times P_i)}{\Sigma n_i} \times 100$$

A continuación, se calculó la actividad condroprotectora de cada tratamiento como el coeficiente de variación a partir del índice obtenido en cada uno de los tres parámetros (GAGs, estructura del cartílago, proliferación de condrocitos) de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad condroprotectora} = CV = \frac{I_{Control\ Operado} - I_{Tratamiento}}{I_{Control\ Operado} - I_{Control\ Blanco}} \times 100$$

Tomando como referencia 100% para el grupo control blanco y 0% para el grupo control operado, se representó la actividad condroprotectora promedio de los tres parámetros.

Resultados

Como se puede observar en la Figura 1, se puede considerar que no existen diferencias entre el grupo tratado con sulfato de condroitina (12%) y el grupo operado (0%), tampoco existen diferencias entre el grupo tratado con clorhidrato de manosamina (-21%) y el grupo operado (0%). Sin embargo, cuando se administró la mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina a un grupo de cobayas operados, se produjo un incremento sinérgico de la actividad condroprotectora, alcanzándose un valor (130%), semejante al grupo control blanco (100%).

Evaluación por el método de Mankin modificado

Con el sistema de gradación se asignaron puntuaciones (scores) separadas para tinción de GAGs con Safranina (puntuación o score de 0-6), pérdida de condrocitos (puntuación de 0-4), estructura (puntuación de 0-8), formación de clones (puntuación de 0-3) e integridad de la línea (puntuación 0-1). A continuación se sumaron las puntuaciones obtenidas en cada subcategoría para cada animal y se obtuvo el valor global histopatológico (*global histopathological score*). La evaluación estadística entre los distintos grupos se realizó mediante el ensayo U de Mann-Whitney (F.J. Gravetter and L.B.Wallnau, *Statistics for the Behavioral Sciences, Wadsworth Publishing, 7 edition, 2006*) (ver Tabla 1).

	Man 60 mg/kg/día	CS 95 mg/kg/día	CS 95 + Man 60 mg/kg/día
Control operado	1,000	0,577	**0,049 ***

***** p< 0,05. Prueba de Mann-Whitney

CS = sulfato de condroitina, sal sódica

Man = clorhidrato de manosamina

TABLA 1

Resultados

En las condiciones experimentales del siguiente estudio, y tal y como se puede observar en la Tabla 1, se confirma que no existen diferencias estadísticamente significativas entre el grupo operado y el grupo tratado con clorhidrato de manosamina. El grupo tratado con sulfato de condroitina provocó una mejora respecto al grupo operado, pero sin significación estadística. En el grupo tratado con la combinación sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina se consiguieron mejoras estadísticamente significativas respecto al grupo operado (p< 0,05).

Conclusiones

El tratamiento con la combinación de sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina ha sido el que ha conducido a una menor incidencia de lesiones junto con el grupo control blanco (cobayas sanos).

Existe un efecto sinérgico entre el clorhidrato de manosamina y el sulfato de condroitina cuando se administran conjuntamente. El clorhidrato de manosamina produce un incremento sinérgico de la acción del sulfato de condroitina.

Ejemplo 6: Determinación de la síntesis de proteoglicano. Estudio comparativo de la combinación de sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina versus una combinación de sulfato de condroitina y clorhidrato de glucosamina.

El objetivo era observar el efecto de una composición de la invención, hecha de una mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina (CS + Man), y una composición hecha de una mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de glucosamina (CS + Glu) en la síntesis de proteoglicanos.

Materiales y métodos

Se prepararon soluciones con las dos composiciones. La composición de la invención (CS + Man) contenía 0,27 mg de sal sódica de sulfato de condroitina y 0,17 mg de clorhidrato de manosamina, y la composición (CS + Glu) contenía 0,27 mg de sal sódica de sulfato de condroitina y 0,17 mg de clorhidrato de glucosamina. Cada composición se disolvió en 1mL de medio de cultivo.

Condrocitos bovinos se cultivaron durante 10 días en gránulos de alginato (como se describe en B. Beekman et al., Exp. Cell Res. 237, 135-141 (1997); Biochem. Biophys. Res. Comm. 237, 107-110 (1997); Osteoarthritis and Cartilage 6, 330-340 (1998)); con 5 gránulos por pocillo; 250 µL de medio de cultivo por pocillo; placas de 48 pocillos, en ausencia (control) o presencia de la composición. Dos veces por semana, el medio se refresca. Tras 10 días, los gránulos se colectan (5 gránulos en cada pocillo de cultivo, n=3 pocillos por tratamiento, n=8 pocillos para control), y se almacenan a -20ºC hasta su análisis.

La síntesis de proteglicanos fue determinada como niveles de glicosaminoglicano (GAG) (µg de GAGs per gránulo).

Resultados

Como se puede observar en la Figura 2, un significante efecto estimulatorio en la síntesis de proteoglicano se encontró en las mezclas CS + Glu y CS + Man en comparación con el control. No obstante, la composición de la invención formada por una mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina mostró un efecto superior que la composición formada por una mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de glucosamina.

Ejemplo 7: Determinación de apoptosis de condrocitos. Estudio comparativo de la combinación de sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina versus una combinación de sulfato de condroitina y clorhidrato de glucosamina.

El objetivo era observar el efecto de una composición de la invención, hecha de una mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina (CS + Man), y una composición hecha de una mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de glucosamina (CS + Glu) en la apoptosis de condrocitos.

Materiales y métodos

Condrocitos bovinos se cultivaron durante 48 horas en gránulos de alginato (como se describe en B. Beekman et al., Exp. Cell Res. 237, 135-141 (1997); Biochem. Biophys. Res. Comm. 237, 107-110 (1997); Osteoarthritis and Cartilage 6, 330-340 (1998)); con 5 gránulos por pocillo; 250 µL de medio de cultivo por pocillo; placas de 48 pocillos, con TNFa (factor de necrosis tumoral alfa) en ausencia (control) o presencia de la composición. Dos veces por semana, el medio se refresca. Entonces, los gránulos se colectaron (3 pocillos por tratamiento, 8 pocillos para control), y se almacenan a -20ºC hasta su análisis.

Cada composición fue examinada en las siguientes concentraciones:

Composición de la invención CS + Man:

Alta concentración: 1,07 mg de sal sódica de sulfato de condroitina + 0,67 mg de clorhidrato de manosamina, disueltos en 1 mL de medio de cultivo.

Baja concentración: 0,54 mg de sal sódica de sulfato de condroitina + 0,34 mg de clorhidrato de manosamina, disueltos en 1 mL de medio de cultivo.

Composición de la invención CS + Glu:

Alta concentración: 1,07 mg de sal sódica de sulfato de condroitina + 0,67 mg de clorhidrato de glucosamina, disueltos en 1 mL de medio de cultivo.

Baja concentración: 0,54 mg de sal sódica de sulfato de condroitina + 0,34 mg de clorhidrato de glucosamina, disueltos en 1 mL de medio de cultivo.

Se midió la apoptosis de condrocitos usando un kit basado en la detección fluorogénica de la actividad de caspasa-3 y caspasa-7 que sigue a la destrucción celular.

Resultados

Como se puede observar en la Figura 3, la composición de la invención formada por una mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de manosamina induce una reducción dependiente de la dosis estadísticamente significante

de la apoptosis de condrocitos cultivados con TNFα en todas las dosis. En contraste, la composición formada por una mezcla de sulfato de condroitina y clorhidrato de glucosamina no mostró un efecto estadísticamente significante

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende sulfato de condroitina y un aminoazúcar, en la que el aminoazúcar se selecciona entre el grupo formado por manosamina, un derivado de la manosamina y sus mezclas, en la que la relación en peso entre el sulfato de condroitina y el aminoazúcar está comprendido entre 1:0,1 y 1:2.

2. La composición según la reivindicación 1, en la que la relación en peso entre el sulfato de condroitina y el aminoazúcar está comprendida entre 1:0,1 y 1:0,7.

3. La composición según la reivindicación 1 ó 2, en la que el aminoazúcar es manosamina.

4. La composición según la reivindicación 1 ó 2, en la que el derivado de la manosamina es *N*-acetilmanosamina.

5. La composición según la reivindicación 1 ó 2, en la que el aminoazúcar es una combinación de manosamina y *N*-acetilmanosamina.

6. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizada porque** además contiene glucosamina.

7. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizada porque** es una composición alimenticia.

8. La composición alimenticia según la reivindicación 7, **caracterizada porque** es un alimento funcional o una composición nutracéutica.

9. Procedimiento para preparar una composición como la definida en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 **caracterizado porque** comprende:

a) preparar una solución acuosa que comprende el sulfato de condroitina;
b) preparar una solución acuosa que comprende el aminoazúcar; y
c) mezclar las soluciones de las etapas a) y b); o bien

a) mezclar el sulfato de condroitina y el aminoazúcar en estado sólido;
b) tamizar y homogeneizar la mezcla.

10. Una composición como la definida en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso como medicamento.

11. Una composición como la definida en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad articular degenerativa, preferiblemente osteoartritis.

12. Una composición como la definida en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso en el tratamiento o prevención de la inflamación o del dolor, preferiblemente asociado a osteoartritis.

13. La composición según las reivindicaciones 11 ó 12, en la que dicha composición es un agente condroprotector.

14. Una composición como la definida en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad, trastorno o lesión periarticular, preferiblemente una enfermedad, trastorno o lesión de tendón o ligamento.

15. Una composición como la definida en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad del sistema inmune, preferiblemente artritis reumatoide.

16. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 15, en la que dicha composición está formulada para su administración oral.

17. La composición según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 15, en la que dicha composición está formulada para su administración intra-articular.

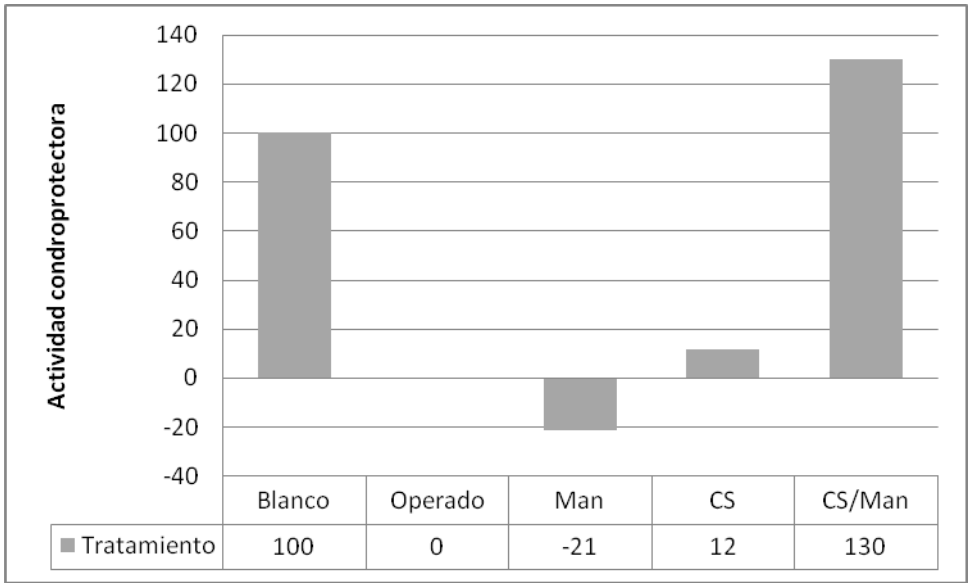
18. Uso de una composición como la definida en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad articular degenerativa, preferiblemente osteoartritis.

19. Uso de una composición como la definida en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de la inflamación o del dolor, preferiblemente asociado a osteoartritis.

20. Uso según las reivindicaciones 18 ó 19, en el que el medicamento es un agente condroprotector.

21. Uso de una composición como la definida en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad, trastorno o lesión periarticular, preferiblemente una enfermedad, trastorno o lesión de tendón o ligamento.

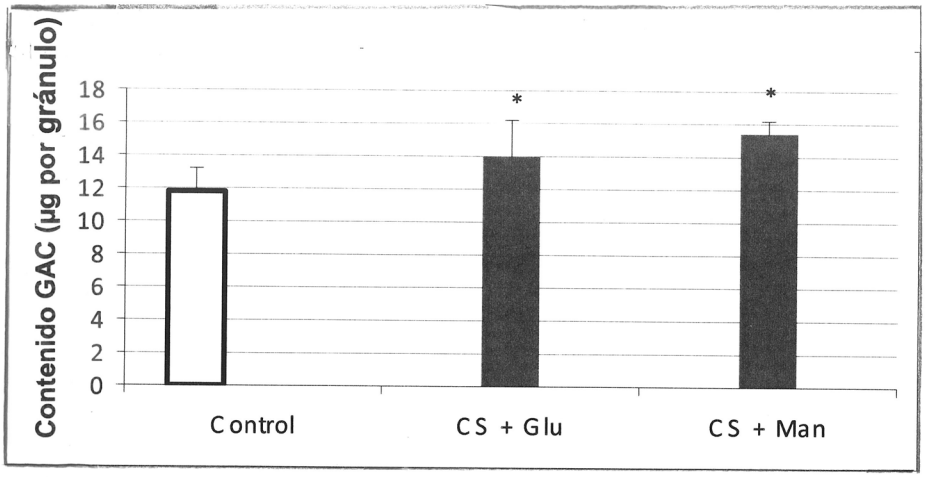
22. Uso de una composición como la definida en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para la preparación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una enfermedad del sistema inmune, preferiblemente artritis reumatoide.



CS = sulfato de condroitina

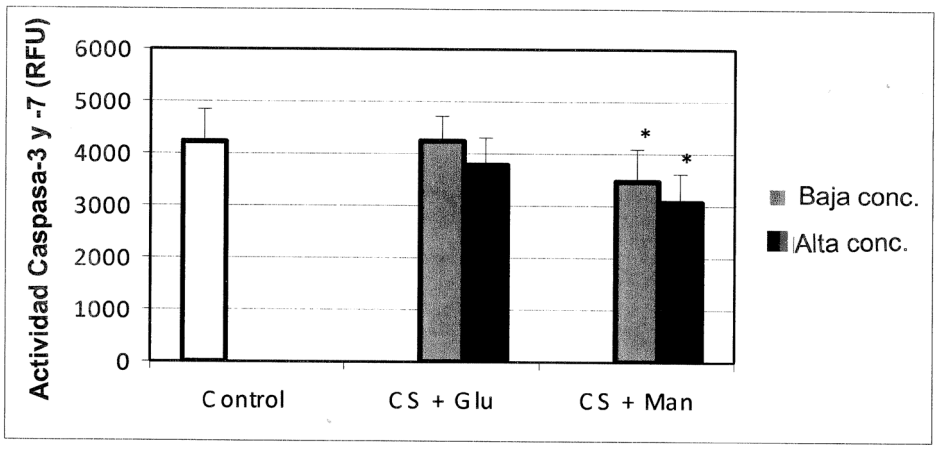
Man = clorhidrato de manosamina

FIGURA 1



ANOVA; p<0.001
CS = sulfato de condroitina, sal sódica
Man = clorhidrato de manosamina
Glu = clorhidrato de glucosamina

FIGURA 2



Kruskal Wallis; p<0.001
CS = sulfato de condroitina, sal sódica
Man = clorhidrato de manosamina
Glu = clorhidrato de glucosamina

FIGURA 3