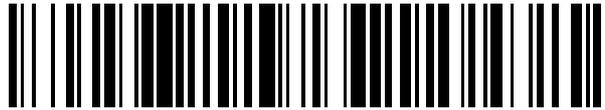


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 497 716**

51 Int. Cl.:

A61K 31/198 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 27/16 (2006.01)

A61K 31/41 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.01.2003 E 03701231 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.07.2014 EP 1471902**

54 Título: **Composiciones para utilizar en métodos destinados a tratar la pérdida auditiva**

30 Prioridad:

04.01.2002 US 345813 P

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

23.09.2014

73 Titular/es:

**SOUND PHARMACEUTICALS INCORPORATED
(100.0%)
4010 STONE WAY N., SUITE 120
SEATTLE, WA 98103, US**

72 Inventor/es:

**KIL, JONATHAN y
LYNCH, ERIC D.**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 497 716 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

Composiciones para utilizar en métodos destinados a tratar la pérdida auditiva

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a composiciones para tratar y prevenir la pérdida auditiva inducida por el ruido.

10 Antecedentes de la invención

Una causa importante de la hipoacusia adquirida es el ruido. La exposición a niveles de ruido nocivos es común en el lugar de trabajo. El Instituto Nacional de Seguridad y Salud Ocupacional estima que unos 30 millones de trabajadores en Estados Unidos enfrenta niveles peligrosos de ruido. (Franks et al. (1996) Preventing Occupational Hearing Loss - A Practical Guide, DHHA (NIOSH) Publicación N° 96-110, p.1). Estos niveles se encuentran, por ejemplo, en la construcción, la minería, la agricultura, la industria y los servicios públicos, el transporte y en las fuerzas armadas. La incidencia de ruido asociada a pérdida auditiva continúa aumentando a pesar de los esfuerzos por regular la exposición al ruido relacionado con el trabajo, y por mejorar el uso de dispositivos de protección auditiva como orejeras y tapones para los oídos.

Otra de las causas de la pérdida auditiva es la exposición a medicamentos ototóxicos como el cisplatino y los antibióticos aminoglucósidos. En consecuencia, existe la necesidad de métodos y composiciones para prevenir o tratar la pérdida auditiva.

Rybak et al (AMERICAN JOURNAL OF OTOTOLOGY, vol. 21, N° 4, 2000, pág. 513-520, "Effect of protective agents against cisplatin ototoxicity") dan a conocer el uso de ebseleno para proteger de la ototoxicidad del cisplatino.

US 6177434 da a conocer el uso de agentes que aumentan las defensas antioxidantes del oído interno como los agonistas de adenosina o agentes para aumento regulado y/o agentes que aumentan los niveles de glutatión en el oído interno para prevenir o revertir la pérdida auditiva inducida por ruido o toxinas.

30 Resumen de la invención

En un aspecto, la presente invención proporciona composiciones para utilizar en métodos destinados a mejorar la pérdida auditiva inducida por ruido, donde cada método comprende el paso de administrar a un sujeto una cantidad de una composición otoprotectora que sea eficaz para mejorar dicha pérdida auditiva. La composición otoprotectora contiene al menos ebseleno. En algunas realizaciones, la composición otoprotectora contiene una cantidad farmacéuticamente eficaz de al menos un análogo de la glutatión peroxidasa que es el ebseleno. En algunas realizaciones, la composición otoprotectora contiene una cantidad farmacéuticamente eficaz de (a) al menos un análogo de la glutatión peroxidasa que es el ebseleno y (b) al menos un inhibidor de la xantina oxidasa (por ej. una composición que contenga ebseleno y alopurinol). En algunas realizaciones, la composición otoprotectora contiene una cantidad farmacéuticamente eficaz de (a) al menos un análogo de la glutatión peroxidasa que es el ebseleno y (b) al menos un glutatión o un precursor del glutatión (por ej. una composición que contenga ebseleno y N-acetil-cisteína).

En algunas realizaciones, la composición otoprotectora contiene una cantidad farmacéuticamente eficaz de (a) al menos un análogo de la glutatión peroxidasa que es el ebseleno, (b) al menos un inhibidor de la xantina oxidasa, y (c) al menos un glutatión o un precursor del glutatión (por ej. una composición que contenga ebseleno, alopurinol y N-acetil-cisteína).

Otro aspecto de la presente invención proporciona composiciones otoprotectoras útiles para mejorar la pérdida auditiva inducida por ruido. Las composiciones otoprotectoras contienen al menos ebseleno. En algunas realizaciones, las composiciones otoprotectoras contienen al menos un análogo de la glutatión peroxidasa que es el ebseleno. En algunas realizaciones, las composiciones otoprotectoras contienen al menos un análogo de la glutatión peroxidasa que es el ebseleno y al menos un inhibidor de la xantina oxidasa. En algunas realizaciones, las composiciones otoprotectoras contienen al menos un análogo de la glutatión peroxidasa que es el ebseleno y al menos un glutatión o un precursor del glutatión.

En algunas realizaciones, las composiciones otoprotectoras contienen al menos un análogo de la glutatión peroxidasa que es el ebseleno, al menos un inhibidor de la xantina oxidasa, y al menos un glutatión o un precursor del glutatión.

Breve descripción de las figuras

Los aspectos anteriores y muchas de las ventajas consiguientes de esta invención se apreciarán más fácilmente a medida que las mismas se entiendan mejor por referencia a la descripción detallada siguiente, cuando se considere conjuntamente con las figuras adjuntas, donde:

La figura 1 muestra una gráfica que compara los desplazamientos del umbral de la respuesta auditiva evocada del tronco encefálico (ABR) analizados con un estímulo clic a 4-16 kHz, 1 día, 1 semana, 2 semanas y 3 semanas después de exponer las ratas de control (A), las ratas tratadas con N-acetil-cisteína (B) y las ratas tratadas con ebseleno (C) a un ruido de 115 dB, 4-16 kHz durante 4 horas. La diferencia en los desplazamientos del umbral entre las ratas de control y las tratadas con ebseleno fue altamente significativa 1 día, 1 semana, y 2 semanas después de la exposición al ruido ($p < 0.01$) y significativa 3 semanas después de la exposición al ruido ($p < 0.05$). La diferencia en los desplazamientos del umbral entre las ratas de control y las ratas tratadas con N-acetil-cisteína fue significativa a todos los tiempos de toma de datos posteriores a la exposición al ruido ($p < 0.05$). Los desplazamientos del umbral respecto a la línea de base se midieron a intervalos de 5 dB.

La figura 2 muestra una gráfica que compara los desplazamientos del umbral de la respuesta auditiva evocada del tronco encefálico (ABR) analizados con un estímulo clic a 4-16 kHz luego de la exposición de las ratas de control (A), las ratas tratadas con 16 mg/kg de ebseleno (B), las ratas tratadas con 16 mg/kg de alopurinol (C) y las ratas tratadas con 8 mg/kg de ebseleno/alopurinol (D) a un ruido de 115 dB, 4-16 kHz durante 4 horas. La diferencia en los desplazamientos del umbral entre las ratas de control (A) y las ratas tratadas con ebseleno (B) fue altamente significativa para los estímulos clic y a 4 kHz ($p < 0.01$). La diferencia en los desplazamientos del umbral entre las ratas de control (A) y las ratas tratadas con alopurinol (C) fue altamente significativa para los estímulos clic, a 4 kHz y a 16 kHz ($p < 0.01$). La diferencia en los desplazamientos del umbral entre las ratas de control (A) y las ratas tratadas con ebseleno/alopurinol (C) fue altamente significativa para los estímulos clic, a 4 kHz y a 16 kHz ($p < 0.01$) y significativa para el estímulo a 12 kHz ($p < 0.05$). Los desplazamientos del umbral respecto a la línea de base se midieron a intervalos de 5 dB.

La figura 3 muestra una gráfica que compara los desplazamientos del umbral de la respuesta auditiva evocada del tronco encefálico (ABR) analizados con estímulos a frecuencias de 4 kHz, 8 kHz, 12 kHz y 16 kHz, 3 semanas después de exponer las ratas de control (A) y las ratas tratadas con ebseleno (B) dos veces a un ruido de 110 dB, 4-16 kHz durante 4 horas, con un espacio de tres semanas. La diferencia en los desplazamientos del umbral entre las ratas de control y las ratas tratadas con ebseleno fue altamente significativa para el estímulo a 8 kHz ($p < 0.01$) y significativa para el estímulo a 16 kHz ($p < 0.05$). Los desplazamientos del umbral respecto a la línea de base se midieron a intervalos de 5 dB.

Las figuras 4A-D muestran gráficas que comparan el porcentaje de pérdida de células ciliadas externas en función de la distancia desde el vértice de la cóclea, después de exponer las ratas de control (A y C) y las ratas tratadas con 16 mg/kg de ebseleno (B y D) en dos momentos, separados por tres semanas, a un ruido de 110 dB, 4-16 kHz durante 4 horas. El número de células ciliadas externas que perdieron las ratas A y C fue de 401 y 246, respectivamente; el número de células ciliadas externas que perdieron las ratas B y D fue de 90 y 56, respectivamente.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

Según se usa en este documento, el término "otoprotectora" se refiere a una sustancia química que es capaz de mejorar la pérdida auditiva.

Según se usa en este documento, la expresión "mejorar la pérdida auditiva" incluye: (a) reducir la magnitud y/o la duración de la pérdida auditiva; y/o (b) retardar el avance de la pérdida auditiva; y/o (c) prevenir el inicio de la pérdida auditiva que se produciría sin la administración de una composición otoprotectora de la invención.

Según se usa en este documento, la expresión "agente ototóxico" significa un agente que es probable que dañe la función de cualquier componente del oído implicado en la audición y, por lo tanto, es probable que induzca una pérdida auditiva temporal o permanente. Los ejemplos de agentes ototóxicos son medicamentos ototóxicos y ruidos ototóxicos.

Según se usa en este documento, la expresión "exposición a un agente ototóxico" incluye una o varias exposiciones a un agente ototóxico reconocido en el área como probable causante de una pérdida auditiva temporal o permanente. Por ejemplo, la Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA) considera que las exposiciones a un ruido mayor o igual a 85 decibelios (dB) es peligrosa para la audición. Por lo tanto, OSHA exige que los trabajadores no estén expuestos a un ruido mayor o igual a 85 dB durante un período continuo de ocho horas, basado en un promedio ponderado de tiempo, a menos que se empleen medidas de reducción del ruido (por ej., orejeras).

Según se usa en este documento, la expresión "composición otoprotectora" se refiere a una composición que contiene al menos un otoprotector, y puede contener más de un otoprotector. Las composiciones otoprotectoras también pueden contener, además de uno o más otoprotectores, portadores farmacéuticamente aceptables que faciliten la administración de la composición otoprotectora a un sujeto mamífero.

En un aspecto, la presente invención proporciona composiciones para utilizar en métodos destinados a mejorar la pérdida auditiva inducida por ruido, donde cada método comprende el paso de administrar a un sujeto una cantidad de una composición otoprotectora que sea eficaz para mejorar dicha pérdida auditiva. Las composiciones de la

invención son aplicables a cualquier sujeto mamífero, por ejemplo un sujeto humano. La composición otoprotectora se puede administrar antes, durante o después de la exposición a un agente ototóxico como el ruido.

Las composiciones otoprotectoras pueden contener uno o más otoprotectores. A menos que se indique lo contrario, cualquier isómero o tautómero de cualquier otoprotector dado a conocer en este documento, se puede utilizar en la invención. Algunos otoprotectores que se pueden incluir en las composiciones otoprotectoras de la invención incluyen glutatión y precursores del glutatión. Los ejemplos representativos de los otoprotectores de esta categoría son: metionina; N-acetil-DL-metionina; S-adenosilmetionina; cisteína; homocisteína; N-acetilcisteína; glutatión; glutatión monoetil éster; glutatión dietil éster; glutatión trietil éster; cisteamina; cistatión; N,N'-diacetil-L-cistina (DiNAC); ácido 2(R,S)-D-ribo-(1',2',3',4'-tetrahidroxibutil)-tiazolidina-4(R)-carboxílico (RibCys); 2-alquiltiazolidina 2(R,S)-D-ribo-(1',2',3',4'-tetrahidroxibutil)tiazolidina (RibCyst); y ácido 2-oxo-L-tiazolidina-4-carboxílico (OTCA).

Los inhibidores de la xantina oxidasa, por ejemplo alopurinol (C₅H₄N₄O) y sus tautómeros, son útiles como otoprotectores en la práctica de la invención. Los siguientes derivados representativos de alopurinol son útiles como otoprotectores en la práctica de la invención: 1-metilalopurinol; 2-metilalopurinol; 5-metilalopurinol; 7-metilalopurinol; 1,5-dimetilalopurinol; 2,5-dimetilalopurinol; 1,7-dimetilalopurinol; 2,7-dimetilalopurinol; 5,7-dimetilalopurinol; 2,5,7-trimetilalopurinol; 1-etoxicarbonilalopurinol; y 1-etoxicarbonil-5-metilalopurinol.

Los análogos de la glutatión peroxidasa como el ebseleno son útiles como otoprotectores en la práctica de la invención. Otros ejemplos de análogos de la glutatión peroxidasa son: 6A,6B-ácido diselenínico-6A', 6B'-selenio β-ciclodextrina (6-diSeCD); y 2,2'-diseleno-bis-Beta-ciclodextrina (2-diSeCD).

La tabla 1 establece rangos de dosis efectiva representativos para algunos de los otoprotectores descritos. Los otoprotectores indicados en la tabla 1 se administran preferentemente por vía oral o intravenosa. Los otoprotectores indicados en la tabla 1 se pueden administrar a un sujeto mamífero antes, durante o después de la exposición a un agente ototóxico, como ruido ototóxico. Habitualmente, un sujeto mamífero recibe al menos una dosis de al menos ebseleno antes y después de cada exposición al ruido ototóxico. En algunas realizaciones, un sujeto mamífero recibe una dosis de al menos ebseleno antes de la exposición al ruido ototóxico y al menos una dosis de al menos ebseleno después de la exposición al ruido ototóxico. En algunas realizaciones, un sujeto mamífero recibe al menos dos dosis diarias de al menos ebseleno para una única exposición a un agente ototóxico, como una exposición a ruido ototóxico que dure de aproximadamente 1 a aproximadamente 6 horas. En algunas realizaciones, un sujeto mamífero recibe al menos tres dosis diarias de al menos ebseleno para exposiciones repetidas a un ruido ototóxico o exposiciones prolongadas a un agente ototóxico, como exposiciones a ruido ototóxico que dure más de aproximadamente 6 horas.

En algunas realizaciones de la invención, una composición otoprotectora que contiene uno o más otoprotectores se administra a un sujeto mamífero una o más veces durante un período que se extiende desde 18 horas antes de la exposición del sujeto mamífero al ruido ototóxico hasta 18 horas después de la exposición del sujeto mamífero al ruido ototóxico. En algunas realizaciones de la invención, una composición otoprotectora que contiene uno o más otoprotectores se administra a un sujeto mamífero una o más veces durante un período que se extiende desde una hora antes de la exposición del sujeto mamífero al ruido ototóxico hasta una hora después de la exposición del sujeto mamífero al ruido ototóxico. En algunas realizaciones de la invención, una composición otoprotectora que contiene uno o más otoprotectores se administra a un sujeto mamífero una o más veces durante un período que se extiende desde 30 minutos antes de la exposición del sujeto mamífero al ruido ototóxico hasta 30 minutos después de la exposición del sujeto mamífero al ruido ototóxico. En algunas realizaciones de la invención, una composición otoprotectora que contiene uno o más otoprotectores se administra a un sujeto mamífero una o más veces durante un período que se extiende desde 10 minutos antes de la exposición del sujeto mamífero al ruido ototóxico hasta 10 minutos después de la exposición del sujeto mamífero al ruido ototóxico. En algunas realizaciones de la invención, una composición otoprotectora que contiene uno o más otoprotectores se administra a un sujeto mamífero simultáneamente con la exposición del sujeto mamífero a un agente ototóxico, como un ruido ototóxico.

La abreviatura "mg" significa miligramos.

Tabla 1. Rango de dosis para los otoprotectores

Compuesto(s)	Nombre químico	Rango preferido en la actualidad	Rango más preferido en la actualidad	Rango que más se prefiere en la actualidad
NAM	N-acetil-metionina	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
Metionina	Metionina	5-5000 mg/día.	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
SAM	S-adenosil-metionina	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
Cisteína	Cisteína	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
NAC	N-acetil-L-cisteína	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
DiNAC	N,N'-diacetil-cistina	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
Homocisteína	Homocisteína	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
RibCyst	2-alquil-tiazolidina, tetrahidroxi-butil)tiazolidina 2(R,S)-D-ribo-(1',2',3',4'-	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
RibCys	Ácido 2(R,S)-D-ribo-(1',2',3',4'-tetrahidroxibutil)-tiazolidina-4(R)-carboxílico	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
Cistati3n	Cistati3n	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
Glutati3n	Glutati3n	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
Glutati3n monoetil 3ster	Glutati3n monoetil 3ster	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
Glutati3n dietil 3ster	Glutati3n dietil 3ster	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
Glutati3n trietil 3ster	S-(1,2-dicarboxietil)glutati3n tri3ster	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
Cisteamina	Cisteamina	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
OTCA	Ácido 2-oxo-L-tiazolidina-4-carboxílico	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
Ebseleno	2-fenil-1,2-benzoisoselenazol-3(2H)-ona	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
2-diSeCD	2,2'-diseleno-bis-Beta-ciclodextrina	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
6-diSeCD	6A,6B-ácido diselenínico-6A',6B'-selenio beta ciclodextrina	5-5000 mg/día	50-2000 mg/día	500-1000 mg/día
Alopurinol	4-hidroxipirazolol[3,4-d]pirimidina	10-2400 mg/día	50-1200 mg/día	100-800 mg/día
1-metilalopurinol		10-2400 mg/día	50-1200 mg/día	100-800 mg/día
2-metilalopurinol		10-2400 mg/día	50-1200 mg/día	100-800 mg/día
5-metilalopurinol		10-2400 mg/día	50-1200 mg/día	100-800 mg/día
7-metilalopurinol		10-2400 mg/día	50-1200 mg/día	100-800 mg/día

Compuesto(s)	Nombre químico	Rango preferido en la actualidad	Rango más preferido en la actualidad	Rango que más se prefiere en la actualidad
1,5-dimetilalopurinol		10-2400 mg/día	50-1200 mg/día	100-800 mg/día
2,5-dimetilalopurinol		10-2400 mg/día	50-1200 mg/día	100-800 mg/día
1,7-dimetilalopurinol		10-2400 mg/día	50-1200 mg/día	100-800 mg/día
2,7-dimetilalopurinol		10-2400 mg/día	50-1200 mg/día	100-800 mg/día
5,7-dimetilalopurinol		10-2400 mg/día	50-1200 mg/día	100-800 mg/día
1-etoxicarbonil-5-metilalopurinol		10-2400 mg/día	50-1200 mg/día	100-800 mg/día
1-etoxicarbonil-5-metilalopurinol		10-2400 mg/día	50-1200 mg/día	100-800 mg/día

Las composiciones otoprotectoras pueden contener uno o más otoprotectores. Las composiciones otoprotectoras de la invención se definen en las reivindicaciones adjuntas. En algunas realizaciones de las composiciones otoprotectoras que contienen más de un otoprotector, las composiciones otoprotectoras se formulan de modo de proporcionar una dosis eficaz de los otoprotectores constituyentes individuales según se establece en la tabla 1. En algunas realizaciones, la combinación de otoprotectores puede actuar sinérgicamente, como se describe en el ejemplo 2.

También se dan a conocer composiciones otoprotectoras que cada una contiene al menos dos (por ej. dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve o diez) otoprotectores individuales. Por ejemplo, algunas composiciones otoprotectoras contienen al menos un otoprotector elegido del grupo A, al menos un otoprotector elegido del grupo B, y al menos un otoprotector elegido del grupo C, donde los grupos A, B y C contienen los otoprotectores siguientes:

Grupo A (glutatión o un precursor del glutatión): metionina; N-acetil-DL-metionina; S-adenosilmetionina; cisteína; N-acetilcisteína; glutatión; glutatión monoetil éster; glutatión dietil éster; glutatión trietil éster; DiNAC; RibCys; homocisteína, cistatión; cisteamina; OTCA y RibCyst.

Grupo B (inhibidores de la xantina oxidasa): alopurinol; 1-metilalopurinol; 2-metilalopurinol; 5-metilalopurinol; 7-metilalopurinol; 1,5-dimetilalopurinol; 2,5-dimetilalopurinol; 1,7-dimetilalopurinol; 2,7-dimetilalopurinol; 5,7-dimetilalopurinol; 2,5,7-trimetilalopurinol; 1-etoxicarbonilalopurinol; y 1-etoxicarbonil-5-metilalopurinol.

Grupo C (análogos de la glutatión peroxidasa): ebseleno; 2-diSeCD y 6-diSeCD.

Las composiciones otoprotectoras de la invención son útiles para mejorar la pérdida auditiva inducida por exposición a un ruido ototóxico.

Las composiciones otoprotectoras de la invención se pueden formular para que proporcionen una dosis que sea eficaz para mejorar la pérdida auditiva en un sujeto expuesto a un agente ototóxico. Por ejemplo, en algunas realizaciones las composiciones otoprotectoras se formulan de modo de proporcionar una dosis eficaz de los otoprotectores individuales establecidos en la tabla 1.

La administración de las composiciones otoprotectoras de la invención se lleva a cabo mediante cualquier vía eficaz, por ej., por vía oral o parenteral, como se describe en los ejemplos 1 a 3. Los métodos de administración parenteral incluyen administración tópica, intraarterial, subcutánea, intramedular, intravenosa o intranasal. Además de uno o más otoprotectores, las composiciones otoprotectoras pueden contener portadores farmacéuticamente aceptables que comprenden excipientes y otros compuestos que facilitan la administración de las composiciones otoprotectoras a un sujeto mamífero. Más detalles sobre las técnicas de formulación y administración se pueden encontrar en la última edición de "Remington's Pharmaceutical Sciences" (Maack Publishing Co, Easton PA).

Las composiciones otoprotectoras para administración oral se pueden formular utilizando portadores farmacéuticamente aceptables bien conocidos en el área en dosis adecuadas para la administración oral, como se describe en los ejemplos 1 a 3. Dichos portadores permiten formular las composiciones otoprotectoras como comprimidos, pastillas, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, lechadas, suspensiones, etc., adecuadas para ser ingeridas por un sujeto.

Las composiciones otoprotectoras para uso oral se pueden obtener, por ejemplo, mediante combinación de uno o más otoprotectores con un excipiente sólido, moliendo opcionalmente la mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, luego de agregar compuestos adicionales adecuados, si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grageas. Los excipientes adecuados incluyen carbohidratos o rellenos de proteína. Éstos incluyen, pero no exclusivamente, azúcares, por ejemplo lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol, almidón de maíz, trigo, arroz, patata u otros vegetales; celulosa como metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa o carboximetilcelulosa sódica; y gomas por ejemplo arábica y tragacanto; así como proteínas como gelatina y colágeno. Si se desea, se pueden agregar desintegrantes o solubilizantes como polivinilpirrolidona reticulada, agar, ácido alginico o una de sus sales como alginato de sodio.

Se proporcionan núcleos de grageas con recubrimientos adecuados como soluciones concentradas de azúcares, que también pueden contener goma arábica, talco, polivinilpirrolidona, gel carbopol, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, soluciones de laca y solventes orgánicos adecuados o mezclas de solventes. Se pueden agregar colorantes o pigmentos a los recubrimientos de los comprimidos o las grageas para identificar el producto o caracterizar la cantidad de principio activo (es decir, la dosis).

Las composiciones otoprotectoras que se pueden utilizar por vía oral, se pueden formular, por ejemplo como cápsulas duras de ajuste a presión hechas de gelatina, así como cápsulas blandas selladas hechas de gelatina y un recubrimiento, como glicerol o sorbitol. Las cápsulas duras de ajuste a presión pueden contener otoprotectores mezclados con rellenos o aglutinantes como lactosa o almidones, lubricantes como talco o estearato de magnesio, y,

opcionalmente, estabilizantes. En las cápsulas blandas, los otoprotectores se pueden disolver o suspender en líquidos adecuados, como aceites grasos, vaselina líquida o polietilenglicol líquido, con o sin estabilizantes.

Las composiciones otoprotectoras para administración parenteral contienen soluciones acuosas de uno o más otoprotectores, como se describe en los ejemplos 1 a 3. Las composiciones protectoras de la invención para inyección, se pueden formular en soluciones acuosas, preferentemente en soluciones amortiguadoras fisiológicamente compatibles como la solución de Hank, la solución de Ringer o la solución salina amortiguada fisiológicamente. Las suspensiones acuosas inyectables pueden contener sustancias que aumenten la viscosidad de la suspensión, como carboximetilcelulosa sódica, sorbitol o dextrano. Además, se pueden preparar suspensiones de otoprotectores como suspensiones oleosas inyectables adecuadas. Los solventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos como aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, como oleato de etilo o triglicéridos, o liposomas. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes o agentes adecuados que aumenten la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de soluciones muy concentradas.

Para la administración tópica o nasal, se usan habitualmente en la formulación penetrantes adecuados para la barrera particular que se va a penetrar. Dichos penetrantes son generalmente conocidos en el área.

Las composiciones otoprotectoras de la presente invención se pueden fabricar de manera similar a la conocida en el área, (por ej., mediante los procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, preparación de grageas, pulverización, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización). Las composiciones otoprotectoras también se pueden modificar para proporcionar características de liberación adecuadas, por ej., liberación sostenida o liberación dirigida, por medios convencionales (por ej., recubrimiento).

Las composiciones otoprotectoras se pueden proporcionar como una sal que se puede formar con muchos ácidos, incluidos pero no exclusivamente, clorhídrico, sulfúrico, acético, láctico, tartárico, málico, succínico, etc. Las sales tienden a ser más solubles en solventes acuosos u otros solventes protónicos que lo que son las bases libres correspondientes.

Luego de que dichas composiciones otoprotectoras formuladas en un portador aceptable han sido preparadas, se pueden colocar en un recipiente adecuado y rotular para su uso.

La cantidad administrada en realidad, dependerá del individuo al que se aplicará el tratamiento y preferentemente será una cantidad optimizada de modo de lograr el efecto deseado sin efectos secundarios significativos. La determinación de una dosis eficaz forma parte de las habilidades de los expertos en el área. Por supuesto, los expertos se darán cuenta de que las dosis divididas y parciales también están comprendidas por el alcance de la invención.

Para cualquier composición otoprotectora, la dosis eficaz se puede estimar inicialmente en ensayos de cultivo celular o en cualquier modelo animal apropiado (por ej., primates, ratas y conejillos de Indias y otros animales de laboratorio pequeños), como se describe en los ejemplos 1 a 3. El modelo animal también se usa habitualmente para lograr un rango de concentración y una vía de administración deseables. Dicha información se puede usar después para determinar las dosis y las vías útiles para la administración a los seres humanos u otros mamíferos.

La eficacia terapéutica y la posible toxicidad de las composiciones otoprotectoras se puede determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar, en cultivos celulares o animales de experimentación, (por ej., DE_{50} , la dosis terapéuticamente eficaz en 50% de la población; y DL_{50} , la dosis letal para el 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos terapéuticos y tóxicos es el índice terapéutico y se puede expresar como el cociente, DE_{50}/DL_{50} . Se prefieren las composiciones otoprotectoras que tienen índices terapéuticos grandes. Los datos obtenidos en ensayos de cultivo celular y estudios en animales se utilizan en la formulación de un rango de dosis para el uso en seres humanos u otros mamíferos. La dosis de dichos compuestos se encuentra preferentemente dentro de un rango de concentraciones circulantes que incluyen la DE_{50} con poca o ninguna toxicidad. La dosis varía habitualmente dentro de este rango dependiendo de la forma farmacéutica empleada, la sensibilidad del paciente y la vía de administración.

Ejemplos

Ejemplo 1

Este ejemplo muestra que la administración de ebseleno a ratas expuestas a ruido las protege de los desplazamientos del umbral y la pérdida de células ciliadas cocleares.

1. Métodos

Paradigma de exposición al ruido: se expusieron 344 ratas hembras Fisher de 8 semanas de vida a un ruido de 110-115 dB a 4-16 kHz durante 4 horas.

5 Análisis fisiológicos: se usó la respuesta auditiva evocada del tronco encefálico (ABR) para evaluar la audición de cada oído en cada animal antes y después de la exposición al ruido utilizando equipos de Intelligent Hearings System. La ABR generada con un estímulo clic (estímulo de amplio espectro, 4-16 kHz) se midió a intervalos de 5 dB. Los animales se reevaluaron 1 día, 1 semana, 2 semanas, y 3 semanas después de la exposición al ruido. Se considera que los cambios en ABR medidos 1 día después de la exposición al ruido representan un desplazamiento temporal del umbral (TTS); se considera que los cambios de ABR medidos 3 semanas después de la exposición al ruido representan un desplazamiento permanente del umbral (PTS).

10 Análisis morfológicos: los recuentos de células ciliadas en la cóclea de animales de prueba después de la exposición al ruido y la evaluación fisiológica usando ABR se determinaron por disección cuidadosa de la cóclea para obtener epitelio sensorial del oído interno. Los tejidos se tiñeron con faloidina marcada con fluoresceína (específica para los filamentos de actina, que son abundantes en las células ciliadas) y 4,6-diamidino-2-fenilindol (DAPI; específicos para el ADN del núcleo de las células). Se montaron las muestras en portaobjetos y se observaron con epifluorescencia para determinar la magnitud de la pérdida de células ciliadas y la retención. La correlación entre los datos fisiológicos (ABR) y los datos morfológicos (recuentos de células ciliadas) permite la confirmación de los efectos protectores de los otoprotectores de la invención.

20 Dosificación de otoprotectores: se disolvió ebseleno a una concentración de 4 mg/mL en DMSO al 10% y se administró a ratas en una dosis de 16 mg/kg. Se disolvió N-acetil-cisteína a una concentración de 100 mg/mL en solución salina y se administró a ratas en una dosis de 325 mg/kg. Aproximadamente 0.5 ml de solución de ebseleno o N-acetil-cisteína se inyectó intraperitonealmente o se administró por sonda nasogástrica oral dos veces por día, el día antes, el mismo día y al día siguiente de la exposición al ruido. Los animales de control recibieron, según un cronograma idéntico, solamente el vehículo (DMSO al 10%).

25 Análisis estadístico: todos los experimentos se realizaron con cuatro ratas por grupo de estudio y midiendo cada oído independientemente antes y después de la exposición al ruido. Los datos se recogieron en estudios a ciegas. Los análisis estadísticos se realizaron mediante análisis de varianza (ANOVA) entre grupos de estudio.

30 2. Resultados

35 Como se muestra en la figura 1, los datos de ABR generados con un estímulo clic a 4-16 kHz medidos a intervalos de 5 dB muestran una reducción muy significativa de TTS en animales que recibieron ebseleno un día después de la exposición al ruido, y una reducción significativa de PTS tres semanas después de la exposición al ruido, en comparación con los controles. La reducción de TTS y PTS en animales que recibieron ebseleno fue al menos de dos veces, en comparación con los animales de control. Del mismo modo, los datos de ABR muestran una reducción significativa de TTS en animales que recibieron N-acetil-cisteína a todos los tiempos de toma de datos después de la exposición al ruido.

40 Los datos fisiológicos se correlacionan con los datos morfológicos de los mismos animales de prueba, que muestran menos pérdida de células ciliadas en la cóclea de los animales tratados con otoprotectores en comparación con el grupo de control. Por ejemplo, en un animal tratado con ebseleno con un PTS de 0 dB y un TTS significativamente reducido, se observó la preservación de las células ciliadas más externas, mientras que hubo pérdida casi completa de las células ciliadas externas en un animal de control con un PTS de 15 dB. Se observó una preservación similar de las células ciliadas externas en las ratas tratadas con N-acetil-cisteína. Por consiguiente, la administración de ebseleno o N-acetil-cisteína resulta en protección fisiológica de la pérdida auditiva inducida por ruido y de la pérdida de células ciliadas.

50 Del mismo modo, se encontró que la administración de alopurinol proporciona protección de la pérdida auditiva inducida por ruido y la pérdida de células ciliadas (véase Ejemplo 2).

Ejemplo 2

55 Este ejemplo muestra que la administración combinada de ebseleno y alopurinol proporciona mayor protección de la pérdida auditiva que cada compuesto administrado solo.

1. Métodos

60 Paradigma de exposición al ruido: se expusieron 344 ratas hembras Fisher de 8 a 10 semanas de vida a un ruido de 110-115 dB a 4-16 kHz durante 4 horas.

65 Análisis fisiológicos: se midió la ABR generada con un estímulo clic (estímulo de amplio espectro, 4-16 kHz) y con estímulos tonales a frecuencias de 4 kHz, 8 kHz, 12 kHz y 16 kHz, a intervalos de 5 dB, como se describe en el ejemplo 1. Los animales se analizaron antes y 3 semanas después de la exposición al ruido para evaluar el PTS.

Dosificación de los compuestos: se disolvió ebseleno a una concentración de 4 mg/ml en DMSO al 10% y se disolvió alopurinol a una concentración de 4 mg/ml en agua. El ebseleno y el alopurinol se administraron a las ratas en una dosis individual de 16 mg/kg o en una dosis combinada de 8 mg/kg de cada uno. Aproximadamente 0.5 mililitro de solución de ebseleno, solución de alopurinol o solución de ebseleno/alopurinol se inyectó intraperitonealmente o se administró por sonda nasogástrica oral dos veces por día, el día antes, el mismo día y al día siguiente de la exposición al ruido. Los animales de control recibieron, según un cronograma idéntico, solamente vehículo.

Análisis estadístico: todos los experimentos se realizaron con cuatro ratas por grupo de estudio y midiendo cada oído independientemente antes y después de la exposición al ruido. Los datos se recogieron en estudios a ciegas. Los análisis estadísticos se realizaron por ANOVA entre grupos de estudio.

2. Resultados

Los datos fisiológicos medidos mediante ABR indican que el ebseleno y el alopurinol, solos o en combinación, producen una protección significativa de los desplazamientos del umbral tanto temporales como permanentes en las ratas expuestas a ruido. La figura 2 muestra que el ebseleno y el alopurinol administrados individualmente por inyección intraperitoneal en una dosis de 16 mg/kg producen una reducción significativa de PTS tres semanas después de la exposición al ruido, en comparación con los controles. A la mitad de la dosis individual (es decir, 8 mg/kg de cada uno), la combinación de ebseleno y alopurinol proporciona un nivel de protección mayor que el aditivo (sinergia).

Ejemplo 3

Este ejemplo muestra que la administración de ebseleno a ratas expuestas repetidamente a ruido las protege de los desplazamientos del umbral y la pérdida de células ciliadas cocleares.

1. Métodos

Paradigma de exposición al ruido: se expusieron 344 ratas hembras Fisher de 8 semanas de vida a un ruido de 110 dB a 4-16 kHz durante 4 horas dos veces separadas por tres semanas.

Análisis fisiológicos: se midió la ABR generada con estímulos tonales a frecuencias de 4 kHz, 8 kHz, 12 kHz y 16 kHz, a intervalos de 5 dB, como se describe en el ejemplo 1. Los animales se analizaron antes y 3 semanas después de la exposición repetida al ruido para evaluar el desplazamiento permanente del umbral (PTS).

Análisis morfológicos: los recuentos de células ciliadas en la cóclea de los animales de prueba después de la exposición al ruido y la evaluación fisiológica usando ABR se determinaron como se describe en el ejemplo 1.

Dosificación de ebseleno: se disolvió ebseleno a una concentración de 4 mg/mL en DMSO al 10% y se administró a las ratas en una dosis de 16 mg/kg. Aproximadamente 0.5 ml de solución de ebseleno se inyectó intraperitonealmente o se administró por sonda nasogástrica oral dos veces al día, el día antes, el mismo día y al día siguiente de cada exposición al ruido. Los animales de control recibieron, según un cronograma idéntico, solamente vehículo.

Análisis estadístico: todos los experimentos se realizaron con cuatro ratas por grupo de estudio y midiendo cada oído independientemente antes y después de la exposición al ruido. Los datos se recogieron en estudios a ciegas. Los análisis estadísticos se realizaron por ANOVA entre grupos de estudio.

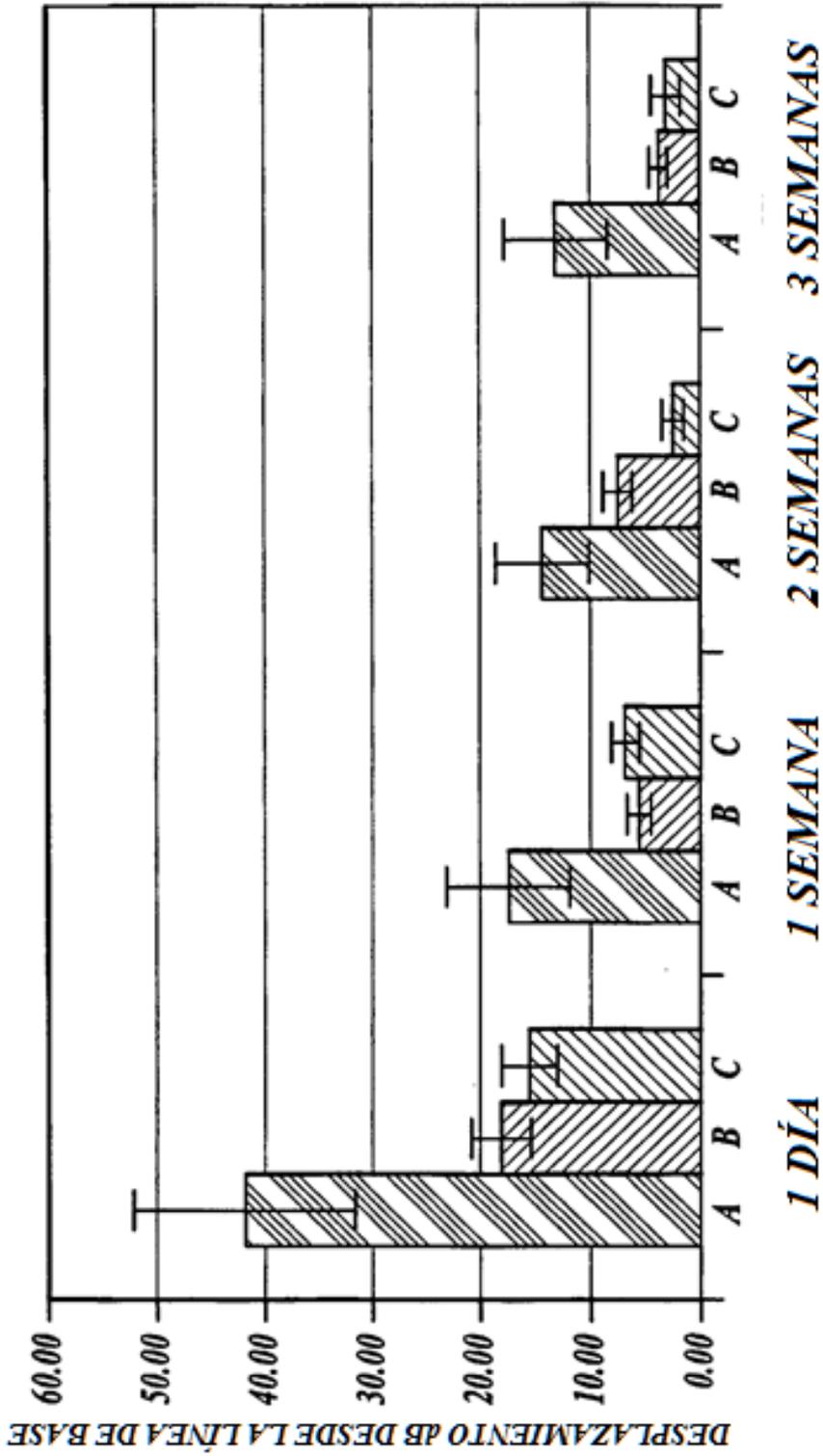
2. Resultados

Los datos fisiológicos medidos por ABR indican que el ebseleno proporciona a las ratas expuestas repetidamente a ruido una protección significativa del desplazamiento del umbral tanto temporal como permanente. La administración de ebseleno resulta en una reducción significativa de TTS 1 día después de las exposiciones repetidas al ruido, en comparación con los controles. Además, el PTS tres semanas después de las exposiciones repetidas al ruido se redujo significativamente en estos animales en comparación con los controles, como se muestra en la figura 3. Los datos fisiológicos se correlacionan con los datos morfológicos de los mismos animales de prueba y muestran menos pérdida de células ciliadas en la cóclea de los animales tratados con ebseleno en comparación con el grupo de control, como se muestra en la figura 4.

REIVINDICACIONES

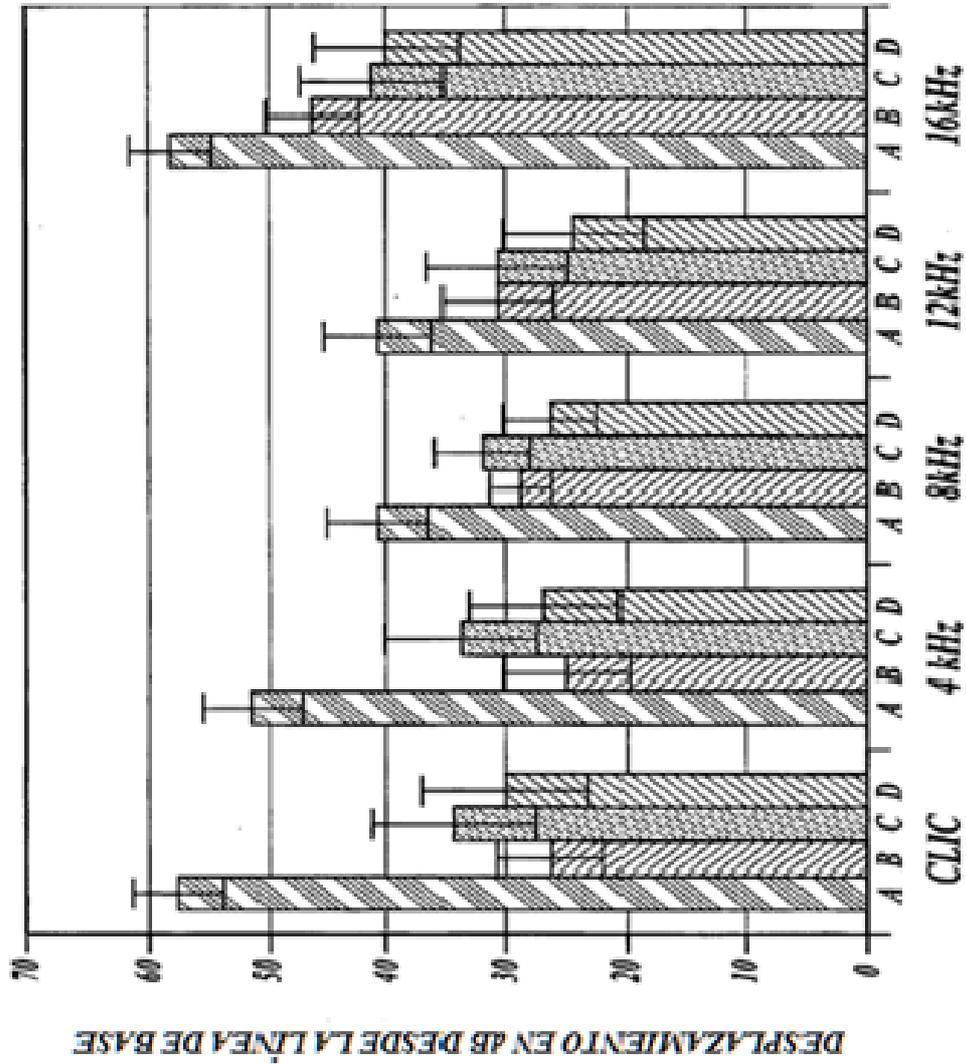
- 5 1. Una composición otoprotectora para utilizar en el mejoramiento de la pérdida auditiva inducida por ruido en un sujeto mamífero, que contiene una cantidad farmacéuticamente eficaz de 2-fenil-1,2-benzoisoselenazol-3(2H)-ona (ebseleno) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.
- 10 2. La composición para utilizar según la reivindicación 1 que contiene:
- (a) una cantidad farmacéuticamente eficaz de 2-fenil-1,2-benzoisoselenazol-3(2H)-ona (ebseleno) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables; y
- (b) una cantidad farmacéuticamente eficaz de al menos un otroprotector elegido del grupo que consiste en: alopurinol, 1-metilalopurinol; 2-metilalopurinol; 5-metilalopurinol; 7-metilalopurinol; 1,5-dimetilalopurinol; 2,5-dimetilalopurinol; 1,7-dimetilalopurinol; 2,7-dimetilalopurinol; 5,7-dimetilalopurinol; 2,5,7-trimetilalopurinol; 1-etoxicarbonilalopurinol; y 1-etoxicarbonil-5-metilalopurinol, y sus sales farmacéuticamente aceptables.
- 15 3. La composición para utilizar según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 que contiene:
- (a) una cantidad farmacéuticamente eficaz de 2-fenil-1,2-benzoisoselenazol-3 (2H)-ona (ebseleno) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables; y
- 20 (b) una cantidad farmacéuticamente eficaz de al menos un otroprotector elegido del grupo que consiste en: alopurinol, 1-metilalopurinol; 2-metilalopurinol; 5-metilalopurinol; 7-metilalopurinol; 1,5-dimetilalopurinol; 2,5-dimetilalopurinol; 1,7-dimetilalopurinol; 2,7-dimetilalopurinol; 5,7-dimetilalopurinol; 1-etoxicarbonilalopurinol; y 1-etoxicarbonil-5-metilalopurinol, y sus sales farmacéuticamente aceptables; donde el ebseleno está presente en una cantidad de 5-5000 mg/día y cada uno de los otoprotectores del grupo (b) está presente en una cantidad de 10-2400 mg/día.
- 25 4. La composición para utilizar según la reivindicación 2 o 3, donde la composición otoprotectora contiene ebseleno y alopurinol o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.
- 30 5. La composición para utilizar según la reivindicación 2 o 3, que contiene además una cantidad farmacéuticamente eficaz de N-acetilcisteína o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.
- 35 6. La composición para utilizar según la reivindicación 5, que contiene ebseleno, alopurinol y N-acetilcisteína o sus sales farmacéuticamente aceptables.
7. La composición para utilizar según la reivindicación 1, en la cual el ebseleno está presente en una cantidad de 5 a 5000 mg/día.
- 40 8. La composición para utilizar según la reivindicación 1, en la cual el ebseleno está presente en una cantidad de 50 a 2000 mg/día.
9. La composición para utilizar según la reivindicación 1, en la cual el ebseleno está presente en una cantidad de 500 a 1000 mg/día.
- 45 10. La composición para utilizar según la reivindicación 4, en la cual el ebseleno está presente en una cantidad de 5 a 5000 mg/día y el alopurinol está presente en una cantidad de 10 a 2400 mg/día.
- 50 11. La composición para utilizar según la reivindicación 4, en la cual el ebseleno está presente en una cantidad de 500 a 1000 mg/día y el alopurinol está presente en una cantidad de 100 a 800 mg/día.
12. La composición para utilizar según la reivindicación 6, en la cual el ebseleno y la N-acetilcisteína están presentes, cada uno, en una cantidad de 5 a 5000 mg/día y el alopurinol está presente en una cantidad de 10 a 2400 mg/día.
- 55 13. La composición para utilizar según la reivindicación 6, en la cual el ebseleno y la N-acetilcisteína están presentes, cada uno, en una cantidad de 500 a 1000 mg/día y el alopurinol está presente en una cantidad de 100 a 800 mg/día.
- 60 14. La composición para utilizar según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que contiene además al menos un portador farmacéuticamente aceptable adecuado para la administración oral a un sujeto mamífero.
15. La composición para utilizar según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, que contiene además un excipiente sólido que consiste en al menos uno entre un carbohidrato o un relleno de proteína.
- 65 16. El uso de una composición como la definida en cualquiera de las reivindicaciones precedentes en la fabricación de un medicamento destinado a mejorar la pérdida auditiva inducida por ruido en un sujeto mamífero.

17. El uso de la reivindicación 16, en el cual el sujeto mamífero es un sujeto humano.



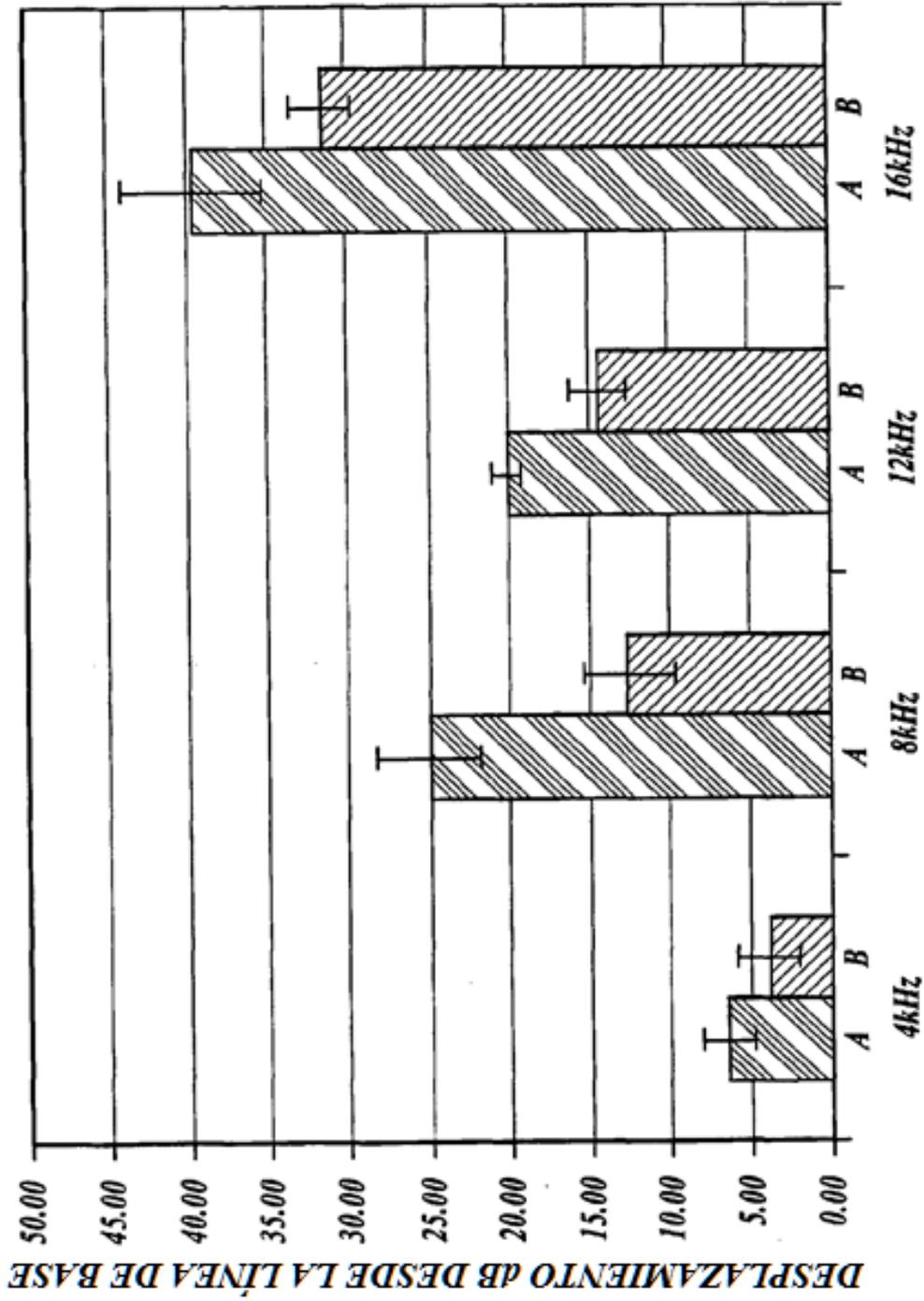
TIEMPO POST EXPOSICIÓN AL RUIDO

Fig. 1.



FRECUENCIA PROBADA

Fig.2.



FRECUENCIA PROBADA

Fig.3.

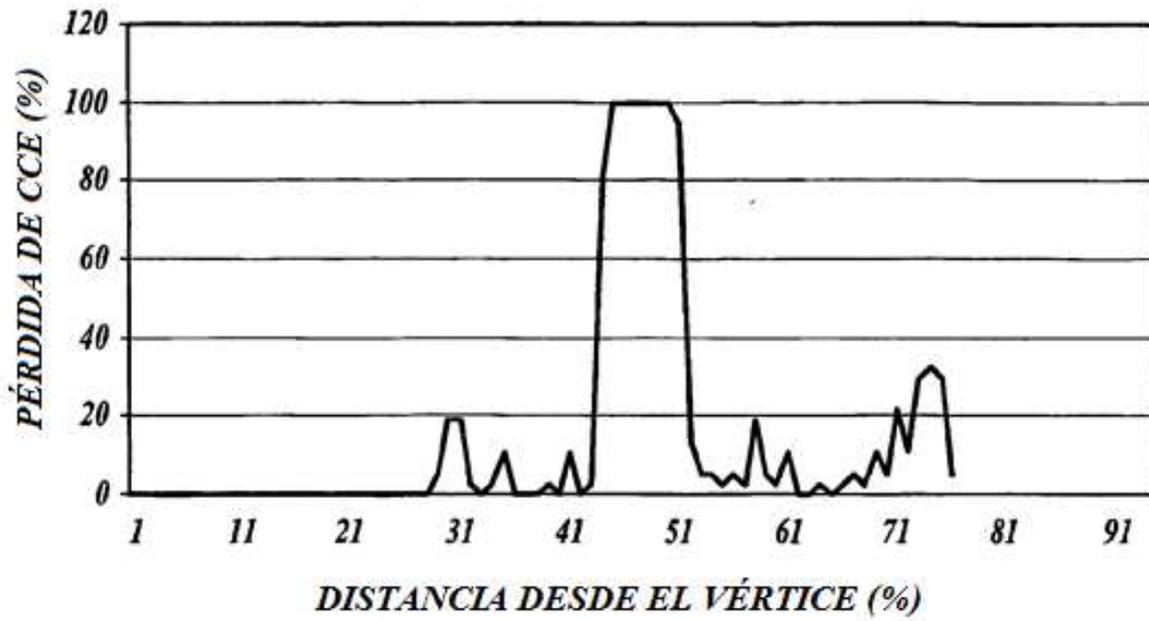


Fig.4A.

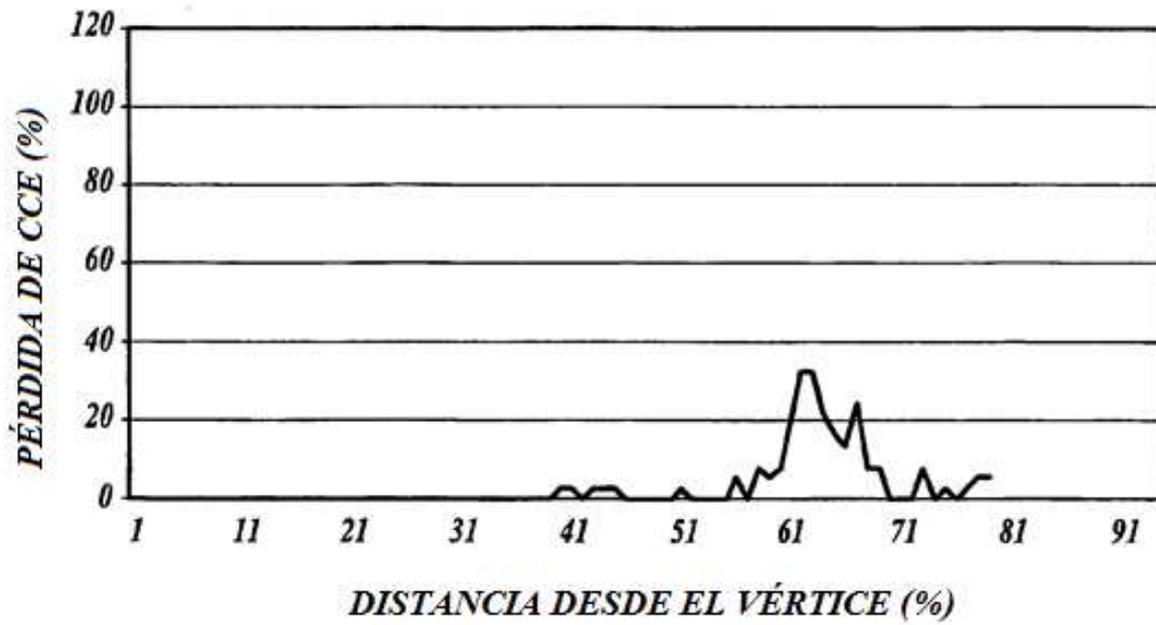


Fig.4B.

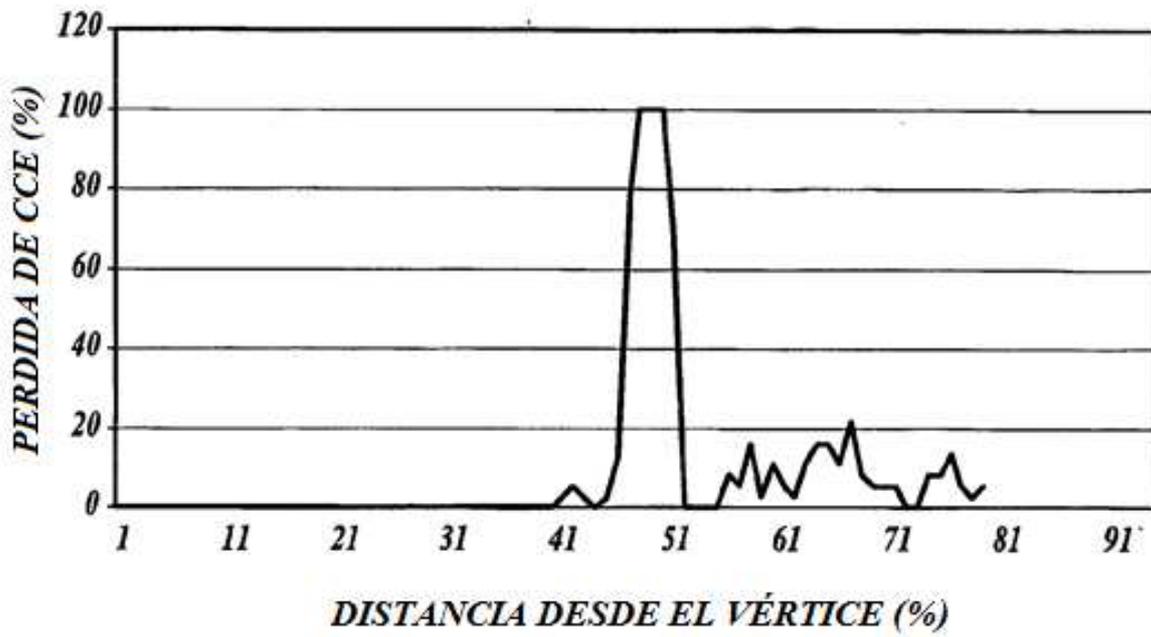


Fig.4C.

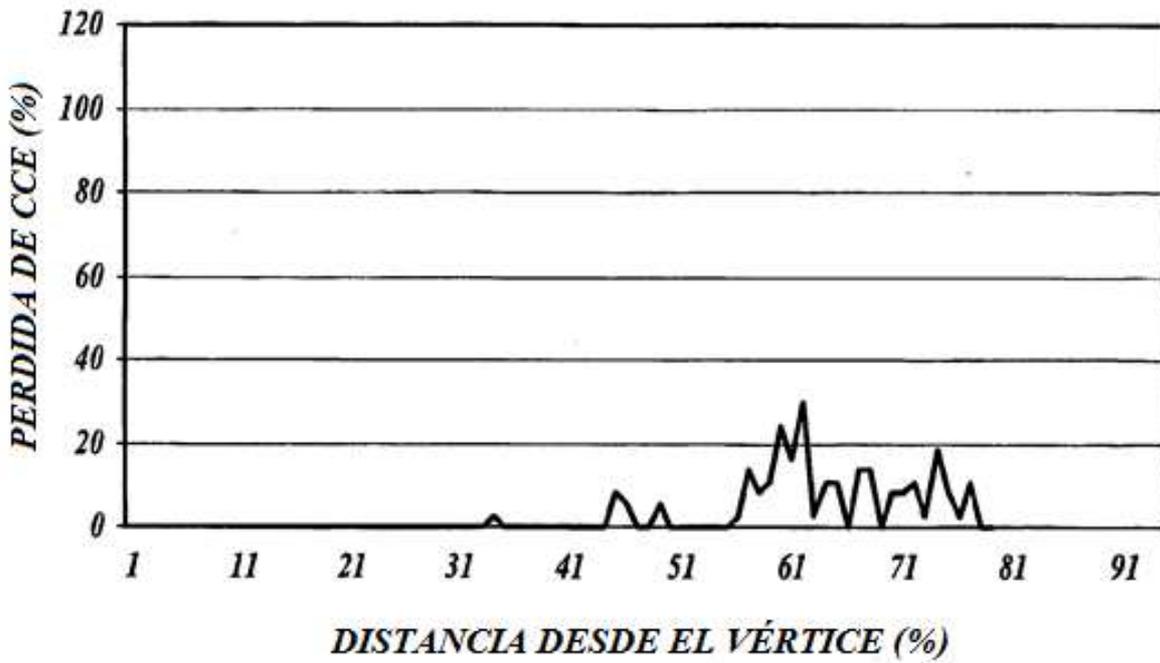


Fig.4D.