

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 524 994**

51 Int. Cl.:

A61K 9/00 (2006.01)

A61K 31/137 (2006.01)

A61P 27/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.09.2005 E 05797324 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.09.2014 EP 1928405**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas para el tratamiento de trastornos del oído interno.**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
16.12.2014

73 Titular/es:

**AURIS MEDICAL AG (100.0%)
Falknerstrasse 4
4001 BASEL, CH**

72 Inventor/es:

MEYER, THOMAS

74 Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

ES 2 524 994 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 farmacéuticas para el tratamiento de trastornos del oído interno.

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a composiciones que contienen ketamina para la prevención y/o el tratamiento del tinnitus y de otros trastornos del oído interno.

Antecedentes de la invención

10 Diversos trastornos del oído interno, por ejemplo pérdidas de audición, enfermedad infecciosa del oído interno o tinnitus, han atraído un interés creciente con el objeto de proporcionar nuevas terapias. Por ejemplo el tinnitus, la percepción de sonidos sin estimulación acústica externa, es un trastorno del oído interno muy común. Se calcula que de un 7% a un 14% de la población ha hablado con su médico sobre el tinnitus, mientras que se presenta un tinnitus potencialmente incapacitante en aproximadamente un 1% a un 2,4% de la población (Vesterager V., British Medical Journal 314 (7082): 728-731 (1997)). El tinnitus a menudo está asociado a otros trastornos auditivos, tales como pérdida de audición o hiperacusia, es decir, hipersensibilidad al sonido (Sahley T. y Nodar R., Hearing Research (152): 43-54), y con bastante frecuencia se origina en el oído interno.

15 Ya se han ensayado en modelos animales o en seres humanos diversas composiciones farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades del oído interno, por ejemplo del tinnitus, tales como lidocaína, gabapentina, nortriptilina, melatonina, caroverina, baclofen, alprazolam, gacilidina, 7-cloroquinurenato o ketamina. Aunque algunos de ellos han resultado ser muy prometedores, todavía ninguno se utiliza regularmente en clínica. Uno de los obstáculos clave para el desarrollo de tratamientos eficaces se basa en el hecho de que el oído interno, como el cerebro, está protegido por una barrera biológica. Normalmente, en caso de una administración sistémica de fármacos se requieren dosis relativamente altas para lograr el efecto terapéutico deseado en el oído interno, lo que implica el riesgo de potentes efectos secundarios sobre el sistema nervioso central o periférico. Por otra parte, la administración tópica en el oído interno permite un suministro de compuestos dirigido que requiere dosis mucho menores, como lo demuestran estudios farmacocinéticos del oído interno (Chen y col., Audiol. Neurootol. 8: 49-56 (2003)). Se puede acceder al oído interno a través de diversas estructuras tisulares que separan el oído medio y el oído interno, tales como la membrana de la ventana redonda, la ventana oval/pie del estribo, el ligamento anular o el saco endolinfático/conducto endolinfático.

20 La administración tópica del compuesto en el oído interno puede llevarse a cabo mediante diversas técnicas. Éstas incluyen la utilización de dispositivos para transportar y/o suministrar el compuesto de forma dirigida a las membranas de la ventana redonda o la ventana oval, desde donde se difunde en el oído interno, o se introduce por infusión activa. Como ejemplos se mencionan: bastoncillos para el oído (véase por ejemplo la patente US 6.120.484 de Silverstein), catéteres de ventana redonda (véanse por ejemplo las patentes US 5.421.818; 5.474.529; 5.476.446; 6.045.528; todas ellas de Arenberg; o 6.377.849 y su divisional 2002/0082554 de Lenarz), o microimplantes (véase por ejemplo WO 2004/064912 de Jukarainen y col.). También incluyen la utilización de dispositivos que se insertan en el conducto coclear o en cualquier otra parte de la cóclea (véase por ejemplo la patente US 6.309.410 de Kuzma). Otra técnica de suministro consiste en la inyección transtimpánica (a veces también denominada "inyección intratimpánica"), en la que la medicación se inyecta en el oído medio a través de la membrana timpánica, generalmente para su difusión a través de la membrana de la ventana redonda (para una descripción más detallada véase por ejemplo Light J. y Silverstein H., Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery (12): 378-383 (2004)). Esta técnica se ha utilizado durante mucho tiempo en la práctica clínica y es una intervención relativamente poco importante, que se puede llevar a cabo en la consulta del médico. Cuando se han de administrar varias inyecciones, se puede insertar un tubo de ventilación del oído medio en la membrana timpánica, a través del cual se puede administrar la medicación en el espacio del oído medio. Los vehículos para medicamentos demasiado viscosos para ser inyectados también pueden ser depositados a través de una pequeña abertura en la membrana timpánica con ayuda de un instrumento quirúrgico.

45 Con el fin de aumentar la eficacia terapéutica de los compuestos farmacéuticos para la terapia del oído interno se pueden utilizar formulaciones particulares con geles, espumas o fibrinas u otros vehículos para medicamentos. Éstos proporcionan una liberación controlada del medicamento durante un período de tiempo prolongado, por ejemplo horas, días o semanas, y mejoran su difusión en el oído interno aumentando la permeabilidad de la estructura tisular que separa el oído medio y el oído interno o manteniendo la formulación en contacto continuo con dicha estructura. Esto resulta favorable en comparación con la administración del compuesto farmacéutico en solución, donde podrían ser necesarias múltiples inyecciones, el medicamento podría percolarse de vuelta al conducto auditivo o podría provocarse una pérdida significativa trompa de Eustaquio abajo y donde podría ser difícil o imposible lograr un contacto continuo con la estructura tisular que separa el oído medio y el oído interno. Idealmente, el vehículo del medicamento es biocompatible y biodegradable, en cuyo caso no hay necesidad de eliminarlo con posterioridad.

55 La difusión de compuestos farmacéuticos a través de las estructuras tisulares que separan el oído medio y el interno, en particular la membrana de la ventana redonda, depende de diversos factores, tales como el peso molecular, la concentración, la liposolubilidad, la carga eléctrica y el espesor de la membrana (Goycoolea M. y Lundman L.,

Microscopy Research and Technique 36: 201-211 (1997)). A falta de datos experimentales obtenidos *in vivo* o con tejido de la membrana, es imposible poder conocer la capacidad de cualquier compuesto farmacéutico o formulación de administración tópica del oído interno para atravesar las estructuras tisulares que separan el oído medio y el oído interno.

5 Selivanova y col., Laryngo-Rhino-Otol (82): 235-239 (2003) han demostrado *in vivo* que el ácido hialurónico aumenta la permeabilidad de la membrana de la ventana redonda y que, de este modo, la sustancia de ensayo lidocaína se difunde más rápidamente en el oído interno y produce un mayor efecto. Chandrasekhar S., Otolaryngology & Neurology (22): 18-23 (2001) han demostrado *in vivo* que la inyección transtimpánica de dexametasona con histamina produce mayores concentraciones de este esteroide en la perilinfa del oído interno que cuando se administra sin ella.

10 Existe una extensa literatura referente a la administración (tópica) de compuestos farmacéuticos para tratar enfermedades del oído interno. Durante algunos años, en la práctica clínica se han venido administrando localmente esteroides y aminoglucósidos en el oído interno (véase por ejemplo Hoffer y col., Otolaryngologic Clinics of North America (37): 1053-1060 (2004)). Sakata y col., International Tinnitus Journal (2): 129-135 (1996), describen la infusión intratimpánica de dexametasona en la cavidad timpánica de seres humanos. Hoffer y col., Otolaryngologic Clinics of North America (36): 353-358 (2003), describen inyecciones transtimpánicas de soluciones de metilprednisolona para el tratamiento del tinnitus después de un traumatismo acústico o de una sordera súbita. En todos estos casos, los medicamentos se administraron en solución. Sin embargo, es menos conocido el tratamiento tópico de enfermedades del oído interno con otras formulaciones.

20 En el documento WO 1997/38698, de Manning y col., se describe la utilización de polímeros biocompatibles para suministrar compuestos farmacéuticos al oído interno para tratar enfermedades del oído medio y del oído interno, por ejemplo la enfermedad de Ménière o enfermedades infecciosas virales y bacterianas. Se muestran datos experimentales de liberación *in vitro* correspondientes a una formulación de ácido hialurónico con gentamicina.

25 En el documento WO 2004/022069, de Puel y col., se describe el suministro de agentes neuromoduladores, en particular el antagonista de NMDA gaciclidina, D-AP5, MK 801 y 7-cloroquinurenato, con diversas formulaciones, incluyendo vehículos farmacológicos como espuma de gel, ácido hialurónico o adhesivo de fibrina, para el tratamiento de varias enfermedades del oído interno. Además, en el documento WO 2004/022069 se describen numerosos métodos de inserción alternativos para la administración de la formulación en el oído medio.

30 La US 6.017.961 describe una pomada que combina ketamina y n-butil-p-aminobenzoato, que además puede contener adicionalmente el gel pluronic F-127 para el tratamiento del dolor "miofascial". La pomada se emplea para el tratamiento tópico mediante administración tópica de la pomada al sitio de dolor del sujeto.

35 La JP 2001/187737 describe el uso de un componente analgésico antiinflamatorio del grupo oxicam para mejorar la agudeza acústica o la sordera orgánica, tal como la presbiacusis. La JP 2001/187737 describe el uso de bromhidrato de dextrometorfano y de una composición que adicionalmente contiene noscapina, guaifenesina, clorhidrato de metilfedrina, maleato de clorfeniramina, polímero carboxinilo, diisopropanolamina, lauro macrogol, alcohol esteraílico y etanol y agua destilada para obtener una pomada en gel.

La US 2003/082214 describe una composición que comprende un antidepresivo, un antagonista del receptor NMDA y un componente lipofílico, así como agua y un surfactante. El antagonista del receptor NMDA puede ser una ketamina. Esta composición se describe para el tratamiento del dolor neuropático.

40 La WO 2004/043902 describe derivados de 4-hidroximetil-1-aril-ciclohexilamina que se unen al receptor ORL-1 y a otros receptores opiáceos. Estos componentes están diseñados para tratamientos relacionados con el dolor.

La WO 98/10757 describe el uso de antagonistas del receptor NMDA para mejorar o prevenir la ototoxicidad inducida por aminoglucósidos. El antagonista del receptor NMDA empleado puede comprender, por ejemplo, ketamina.

45 El documento publicado WO 2005/094799 se refiere a la prevención y/o el tratamiento del tinnitus inducido por excitotoxicidad coclear. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender ketamina como antagonista del receptor NMDA.

50 En vista de la literatura arriba mencionada y de las desventajas relacionadas con muchas de las composiciones farmacéuticas utilizadas hasta ahora para la administración tópica, existe la necesidad de otras composiciones farmacéuticas apropiadas para el tratamiento tópico de trastornos del oído interno que puedan ser inyectadas fácilmente en el oído medio, que liberen el fármaco durante un período de tiempo prolongado y que permitan que un alto porcentaje del medicamento sea suministrado al oído interno.

Sumario de la invención

La presente invención proporciona composiciones que contienen (i) como un principio activo farmacéutico ketamina o una forma enantiomérica de ketamina y (ii) como un polímero biocompatible gel de ácido hialurónico, para su uso como

medicamento para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades del oído interno, por ejemplo el tinnitus. El medicamento se formula para su administración en el oído medio o a una estructura interfacial del oído medio. Su agente farmacéuticamente activo está disuelto o suspendido en el gel de ácido hialurónico.

5 La composición de la presente invención comprende un soporte polimérico biocompatible que incorpora una cantidad terapéuticamente eficaz de como mínimo un principio activo farmacéutico tal como se ha definido anteriormente. El agente activo farmacéutico puede por ejemplo suprimir o reducir la percepción del tinnitus. Preferentemente, la composición se formula de modo que, al ser administrada al oído medio, pueda permanecer en contacto con como mínimo una de las estructuras tisulares interfaciales del oído medio y proporcionar una liberación prolongada del principio activo farmacéutico dentro del oído interno. Preferentemente, el polímero biocompatible también es
10 biodegradable y además puede aumentar la permeabilidad de la estructura tisular interfacial del oído medio para aumentar la difusión del principio activo farmacéutico.

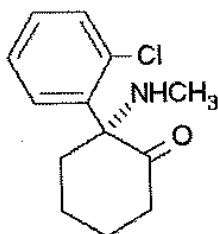
Breve descripción de las figuras

- Fig. 1: muestra la liberación acumulativa de S-(+)-ketamina a partir de formulaciones en gel de ácido hialurónico al 5% y al 7,5% en solución en tampón fosfato en función del tiempo.
- 15 Fig. 2: muestra la concentración de S-(+)-ketamina en perilinfa después de haber sido liberada de una formulación de ácido hialurónico al 2,8% que había sido dispuesta en el nicho de la ventana redonda de cobayas y después se había difundido dentro del oído interno a través de la ventana redonda.
- Fig. 3: muestra la concentración de S-(+)-ketamina en perilinfa después de haber sido liberada de una formulación de ácido hialurónico al 0,7% o de una formulación de poloxámero al 20% que habían sido
20 inyectadas en el nicho de la ventana redonda de cobayas y después se habían difundido dentro del oído interno a través de la ventana redonda.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se basa en descubrimientos experimentales con composiciones que son particularmente adecuadas para la administración tópica de ketamina, un enantiómero de la misma o una sal farmacéuticamente activa de la misma, para su uso en la prevención o el tratamiento de trastornos del oído interno.
25

La formulación de la invención contiene como principio activo farmacéutico principal I) ketamina (C₁₃H₁₆ClNO (base libre), 2-(2-clorofenil)-2-(metilamino)ciclohexanona), cuya fórmula estructural es



(II),

30 que es un antagonista del receptor NMDA no competitivo que se une al sitio de unión PCP, un sitio separado del complejo del receptor NMDA situado dentro del canal de iones, bloqueando así el flujo iónico transmembrana.

En la composición de la invención como principio activo se puede utilizar cualquier forma enantiomérica de la ketamina. La ketamina se puede obtener mediante los métodos descritos en el documento US 3.254.124. Más específicamente, el compuesto preferente es (S)-ketamina, ya que ésta se une al sitio de unión PCP del receptor NMDA con una afinidad 3-4 veces mayor que la (R)-ketamina (Vollenweider y col., *Eur. Neuropsychopharmacol.* 7: 25-38 (1997)). La síntesis de
35 los isómeros ópticos se puede llevar a cabo tal como se describe en los documentos DE 2 062 620 o WO 01/98265.

El compuesto ketamina contenido en la composición farmacéutica de esta invención se puede proporcionar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. Ejemplos de estas sales incluyen, sin limitación, aquellas formadas con ácidos orgánicos (por ejemplo los ácidos acético, láctico, cítrico, málico, fórmico, tartárico, esteárico, ascórbico, succínico, benzoico, metanosulfónico, toluensulfónico o ácido pamoico), con ácidos inorgánicos (por ejemplo con los ácidos clorhídrico, nítrico, difosfórico, sulfúrico o fosfórico) y con ácidos poliméricos (por ejemplo con ácido tánico, carboximetilcelulosa, ácido poliláctico, poliglicólico o copolímeros de ácidos polilácticos-glicólicos). En una realización preferente de la presente invención, la ketamina se puede administrar como una sal clorhidrato (C₁₃H₁₇Cl₂NO) de su forma de base libre.
40

5 La invención se refiere a composiciones que incorporan el agente principio activo farmacéutico tal como se ha definido arriba, en caso dado en combinación con como mínimo otro principio activo farmacéutico. Se pueden formular de tal modo que pueden ser administradas tópicamente dentro del oído medio para lograr una liberación controlada del principio activo con el objetivo de aumentar al máximo su paso al oído interno. Preferentemente, la composición se adhiere a la estructura tisular interfacial del oído medio seleccionada mediante bioadhesión o por propiedades mecánicas.

10 El polímero biocompatible contenido en la composición de la invención puede reforzar estos objetivos principalmente a través de dos mecanismos. En primer lugar, asegurando que el compuesto farmacéutico se suministra a la estructura tisular interfacial del oído medio, desde donde se ha de difundir al oído interno. Con este fin, el polímero ha de permanecer en el sitio diana durante el tiempo necesario para lograr la duración y el efecto deseados del tratamiento farmacológico, bien por adhesión a la mucosa local del oído medio, bien a través de propiedades de viscosidad, que aseguran que la formulación permanece en su sitio. En segundo lugar, aumentando la permeabilidad de la estructura tisular interfacial del oído medio para facilitar el paso del compuesto farmacéutico al interior del oído interno.

15 La composición que contiene el principio activo farmacéutico como se ha definido anteriormente (en la siguiente descripción con frecuencia designado simplemente "principio activo") tiene un estado en forma de gel. Preferentemente, la composición es un gel termoendurecible.

La composición de la invención contiene como un polímero biocompatible ácido hialurónico. El (Los) polímero(s) biocompatible(s) se caracterizan porque son esencialmente reactivos con respecto al cuerpo humano/animal o a los fluidos corporales.

20 El polímero incluido en la composición se degrada *in vivo*, hidrolítica o enzimáticamente, para producir productos secundarios biocompatibles, toxicológicamente seguros, que son eliminados a través de las rutas metabólicas normales. Diversos polímeros naturales, sintéticos y biosintéticos son biodegradables. Un polímero basado en un esqueleto de C-C tiende a no ser biodegradable, mientras que los esqueletos poliméricos que contienen heteroátomos confieren biodegradabilidad. Por consiguiente, se puede provocar la biodegradabilidad en los polímeros mediante la adición apropiada de enlaces químicos, tales como enlaces anhídrido, éster o amida, entre otros. La degradación se efectúa por hidrólisis o disociación enzimática, lo que resulta en una escisión del esqueleto polimérico. Son preferentes los polímeros biodegradables con enlaces químicos hidrolizables.

30 Para ser utilizado en composiciones médicas, el polímero biodegradable debe ser biocompatible y, preferentemente, ha de satisfacer otros criterios, por ejemplo ser procesable como biomaterial, esterilizable y capaz de una estabilidad o degradación controlada en respuesta a condiciones biológicas. Por consiguiente, la biocompatibilidad de un polímero con frecuencia viene definida por los productos de degradación y no necesariamente por el propio polímero.

35 Polímeros no reivindicados son poli(ésteres) basados en polilactidas (PLA), poliglicólidos (PGA), policaprolactona (PCL) y sus copolímeros son polímeros útiles en composiciones farmacéuticas. La degradación de estos materiales produce los hidroxiácidos correspondientes, haciéndolos seguros para su uso *in vivo*. Otros polímeros biodegradables incluyen, por ejemplo, polihidroxicanoatos de la clase PHB-PHV, poliésteres adicionales y polímeros naturales, en particular polisacáridos modificados, por ejemplo almidón, celulosa y quitosano.

40 Un polímero biocompatible no reivindicado también puede seleccionarse de entre (co)polímeros en bloque. Por ejemplo, los copolímeros multibloque de óxido de poli(etileno), PEO y tereftalato de poli(butileno), PBT, pueden ser materiales adecuados. Estos materiales están sometidos tanto a hidrólisis (a través de enlaces éster) como a oxidación (a través de enlaces éter). La velocidad de degradación está influida por el contenido y el peso molecular del PEO. El copolímero con una mayor absorción de agua se degrada más rápidamente.

45 Las composiciones de la invención pueden contener una forma homogénea de un polímero biocompatible o pueden contener mezclas de uno, dos o más polímeros diferentes, que se pueden preparar debido a una variedad de polímeros obtenidos mediante los métodos de producción resultantes en una producción de polímeros no homogéneos o mediante la combinación de diferentes polímeros en un paso de mezcla independiente.

El polímero biocompatible utilizado en la presente composición se proporciona como un gel, que puede ser biodegradable o no biodegradable, acuoso o no acuoso o basado en microesferas.

50 El polímero biocompatible formador de gel en la presente invención es/son ácido hialurónico y sus hialuronatos respectivos. Otros polímeros no reivindicados son geles de lecitina, derivados de (poli)anilina, plurónicos, poli(etilenglicol), poloxámeros, quitosanos, xiloglucanos, colágenos, fibrinas, poliésteres, poli(lactidas), poli(glicólidos) o sus copolímeros PLGA, acetato-isobutirato de sacarosa y monooleato de glicerol. El gel de la invención puede administrarse fácilmente en el oído medio, liberar el fármaco durante un período de tiempo prolongado y permitir que un alto porcentaje del fármaco sea suministrado al interior del oído interno.

El ácido hialurónico, que se utiliza como polímero biocompatible en la composición de la invención, es una sustancia fisiológica que está extensamente distribuida en la matriz extracelular de tejido conjuntivo en todos los órganos del cuerpo. Se encuentra con diversos pesos moleculares y se sabe que no es antigénico. Además, presenta una excelente biocompatibilidad y también es biodegradable. Estos polímeros de alto peso molecular son muy utilizados en las industrias farmacéutica y cosmética, por ejemplo como ayuda oftalmquirúrgica en diversos procedimientos anteriores, como la cirugía de catarata intracapsular y extracapsular, la implantación de lentes intraoculares, la queratoplastia, la cirugía del glaucoma y cirugías postraumáticas. Los ácidos hialurónicos también se han utilizado en el tratamiento de problemas de las articulaciones. El ácido hialurónico es un polisacárido natural, un glucosaminoglucano compuesto por un polímero de cadena larga que contiene unidades disacárido repetidas de Na-glucuronato-N-acetilglucosamina. Las principales propiedades del ácido hialurónico son que se une al agua y, por tanto, forma un gel degradable de alta viscosidad. La viscosidad de las soluciones de ácido hialurónico aumenta con la concentración y el peso molecular. Los principios activos farmacéuticos pueden estar disueltos o suspendidos en el gel de ácido hialurónico.

Otros biopolímeros no reivindicados son fosfolípidos, que junto con algunos otros aditivos han demostrado proporcionar un vehículo de suministro de fármacos tópicos muy prometedor, este es, organogel de lecitina (LO). Los LO son geles termodinámicamente estables, claros, viscoelásticos, biocompatibles e isotropos, compuestos por fosfolípidos (lecitina), disolventes orgánicos apropiados y un disolvente polar. Las fases gelatinosas consisten en una red tridimensional de micelas cilíndricas inversas entrecruzadas (*análogos a polímeros*) que inmoviliza la fase orgánica externa continua o macroscópica, convirtiendo así un líquido en un gel. La formación de una red tridimensional en el organogel es el resultado de la transición a nivel micelar en un líquido newtoniano de poca viscosidad consistente en micelas inversas de lecitina en un líquido orgánico no polar. Este estado micelar inverso esférico de agregados lipídicos forma micelas tubulares alargadas con la adición de agua, que después se entrecruzan para formar una red tridimensional temporal en la solución madre. Ésta sirve para inmovilizar la fase orgánica externa, produciendo así una forma de gel o el estado gelatinoso a partir de la solución no viscosa inicial.

Otro polímero no reivindicado es poli(etilenglicol), PEG, un derivado de óxido de poli(etileno), PEO, que tiene además grupos hidroxilo en cada extremo de su molécula. Las propiedades clave que hacen que el PEG sea atractivo como polímero en composiciones farmacéuticas son su biocompatibilidad, su carácter hidrófilo y su versatilidad. El polímero lineal hidrosoluble simple puede ser modificado por interacción química para formar hidrogeles insolubles en agua, pero hinchables con agua. Los polímeros absorbentes que pueden funcionar como hidrogeles se pueden preparar, por ejemplo, sometiendo los polímeros a reticulación covalente o creando polímeros asociativos consistentes en componentes hidrófilos e hidrófobos (reticulaciones "efectivas" a través de enlaces de hidrógeno).

Los geles termoendurecibles comprenden polímeros que son fluidos a baja temperatura, pero que forman implantes muy viscosos, casi sólidos, al ser colocados en una zona a temperatura corporal. Los poloxámeros son los más comunes de estos sistemas termoendurecibles reversibles. Si se disuelven en concentraciones por encima del 20% (p/p), las soluciones serán fluidas a bajas temperaturas, pero formarán implantes muy viscosos, como sólidos, con un aumento de la temperatura (normalmente alrededor de 15°C). La temperatura de gelificación exacta se puede modificar cambiando el contenido en poloxámero o añadiendo otros excipientes. Una vez colocados en su sitio, los implantes liberan los fármacos solubles por difusión a través del polímero. Los implantes poliméricos no permanecen intactos durante mucho tiempo. En los lugares en los que el flujo de fluidos es significativo (por ejemplo en el espacio subcutáneo), los implantes se pueden mantener durante un período de hasta 12-24 horas. Los poloxámeros no son biodegradables, ya que son poliéteres (copolímeros de bloques de polioxietileno y polioxipropileno). Son excretados intactos en la orina, ya que son polímeros con un peso molecular relativamente bajo (< 20 kD). Pueden portar una carga considerable de medicamento, aunque se produce un importante efecto de disgregación, especialmente en el caso de medicamentos hidrófilos. El perfil cinético de los medicamentos hidrófobos tiende a ser retardado, posiblemente por secuestro del medicamento dentro de un núcleo hidrófobo del implante.

Geles termoendurecibles que son biodegradables y tienen características de liberación más lentas que los poloxámeros incluyen PLA-PEG o copolímeros tribloque de PEG-PLGA-PEG (no reivindicados). Como los sistemas de poloxámero, son fluidos a baja temperatura. Tras la administración forman un gel semisólido.

Otro biopolímero no reivindicado es la quitina, el segundo polímero natural más abundante en el mundo después de la celulosa. Cuando se somete a desacetilación, produce el biomaterial quitosano, el cual, bajo posterior hidrólisis, produce un oligosacárido de peso molecular extremadamente bajo. El quitosano tiene propiedades de biocompatibilidad y antibacterianas. Una solución de quitosano-glicerol fosfato puede formar un gel termoendurecible reversible. De nuevo, es fluida a bajas temperaturas y forma un semisólido tras ser administrado a la temperatura corporal. Este sistema se puede utilizar, por ejemplo, para suministrar la hormona del crecimiento. El quitosano es soluble en agua hasta un pH 6,2. Cualquier pH por encima de este valor conduce a una neutralización de la carga y precipitación del polímero. La adición de fosfatos basados en azúcares transforma el quitosano a un sistema de suministro de fármacos en gel termorreversible.

Además de los geles termorreversibles, son conocidos otros polímeros no reivindicados sensibles a estímulos que dependen críticamente del equilibrio entre las interacciones polímero-polímero y polímero-disolvente bajo diversos estímulos, incluyendo cambios de temperatura, pH, fuerza iónica, concentración de disolvente, presión, cizallamiento,

intensidad luminosa, campos eléctricos o magnéticos, o una combinación de estos factores. Un ejemplo de hidrogel reversible por pH no reivindicado es la solución acuosa de un polímero de ácido poli(acrílico), que experimenta una transición de fase mediada por el pH a concentraciones superiores al 0,1% en peso.

5 El gel sensible a estímulos también se puede formar a partir de un polímero polipeptídico degradable enzimáticamente, no reivindicado. Los enlaces polipeptídico en el polímero polipeptídico son más estables frente a la hidrólisis que, por ejemplo, los enlaces éster en sistemas poliméricos PEG/PLGA, lo que además proporciona una mayor estabilidad de almacenamiento. El vehículo del polipeptídico también puede incluir un polímero biodegradable que tenga un bloque polipeptídico biodegradable unido a un segundo bloque polimérico, formando un polímero de injerto o lineal. Un ejemplo de polímero de polipeptídico es la poli(alanina) y sus derivados. El vehículo del polipeptídico también puede ser una matriz proteínica conocida como fibrina. El fibrinógeno es una proteína natural que, al ser combinada con la enzima trombina, otra proteína natural, forma una biomatriz conocida como fibrina.

10 También se pueden utilizar otros polímeros biocompatibles no reivindicados, incluyendo almidón, celulosas, gelatinas, plurónicos, tetrónicos, estos dos últimos son materiales de óxido de poli(etileno)/óxido de poli(propileno). Otros materiales no reivindicados que se pueden utilizar incluyen sulfatos de condroitina y la clase general de los mucopolisacáridos (por ejemplo glucosaminoglucanos) y otros polímeros biocompatibles con características similares a las del ácido hialurónico.

15 Los medicamentos que contienen la composición de la invención se forman preferentemente como formulaciones de liberación controlada, que liberan el o los principios activos farmacéuticos durante varias horas o incluso varias semanas.

20 La composición puede comprender un gel polimérico reticulado que forma una "jaula" macromolecular en la que se dispersa el principio activo. Alternativamente, la presente composición puede comprender un gel mixto reticulado consistente en una combinación de polímeros hidrófilos biocompatibles en la que está dispersado el principio activo.

25 La tasa de liberación de los compuestos farmacéuticos a partir de geles basados en polímeros se puede prolongar mediante dicha reticulación, mientras que las cadenas adyacentes del polímero se unen creando enlaces covalentes. El polímero reticulado resultante se descompone más lentamente y, en consecuencia, retiene el principio activo farmacéutico durante más tiempo.

30 Son bien conocidos en la técnica diversos agentes reticulantes y métodos para llevar a cabo la reticulación de materiales biodegradables. Preferentemente, la reticulación se lleva a cabo de tal modo que el material reticulado final para la unidad de suministro es esencialmente no tóxico (por ejemplo, empleando una reticulación térmica, radiación gamma, radiación ultravioleta, reticulación química, etc.). En general, el grado de reticulación es inversamente proporcional al grado de hinchamiento o absorción de agua por la estructura polimérica conformada. El grado de hinchamiento o absorción de agua regula la velocidad de transporte del medicamento por la estructura polimérica.

35 En una realización de la presente invención, la liberación del principio activo a partir del polímero se controla químicamente. Este control se puede lograr utilizando cadenas bioerosionables o pendientes. La bioerosión polimérica se puede definir como la conversión de un material que es insoluble en agua en uno que es hidrosoluble. Idealmente, en un sistema de este tipo el principio activo se distribuye uniformemente por todo el polímero. A medida que se erosiona el polímero que rodea el principio activo, éste escapa. En un sistema de cadenas pendientes, el principio activo está unido de forma covalente con el polímero y se libera por escisión del enlace debida al agua o a enzimas. En los sistemas controlados activados por disolvente, el principio activo está disuelto o disperso dentro de una matriz polimérica y no se puede difundir a través de la matriz. En un tipo de sistemas controlados por disolvente, a medida que el fluido del entorno, por ejemplo agua, penetra en la matriz, el polímero se hincha y su temperatura de transición vítrea desciende por debajo de la temperatura ambiente. De este modo, el polímero hinchado presenta un estado gomoso y permite que el medicamento contenido en el mismo se difunda a través del material de encapsulado.

40 También es posible combinar la realización arriba descrita permitiendo la liberación controlada del principio activo, por ejemplo, mediante la creación de un gel que contenga microesferas. En ese caso, la liberación del principio activo puede ser controlada por el sistema de gel y también por las microesferas suspendidas en el sistema de gel polimérico.

45 La mayoría de los sistemas de gel viscoso arriba descritos para hialuronato podría diseñarse para contener microesferas suspendidas. El gel podría proporcionar un contacto íntimo con la estructura tisular interfacial del oído medio, permitiendo así que las microesferas transporten el o los principios activos al interior del oído interno a través de la membrana. Las velocidades de liberación del principio activo dependen en gran medida del tamaño de las microesferas que contienen dicho principio activo: en general, microesferas más grandes pueden liberar los compuestos encapsulados más lentamente y durante tiempos más largos. Para lograr un suministro del principio activo a una velocidad constante puede resultar útil mezclar microesferas de diferentes tamaños para generar una velocidad constante de liberación a lo largo de un período prolongado. Además, el gel que contiene las microesferas también puede contener sustancias que aumenten la permeabilidad de la membrana, para que las microesferas puedan atravesarla con mayor facilidad.

Los diferentes sistemas arriba descritos adecuados para la liberación controlada del principio activo también se pueden incluir en un implante que se puede colocar, por ejemplo, en la membrana de la ventana redonda y que libera el principio activo de forma controlada.

5 En una realización, el implante consiste esencialmente en un medio vehículo que está combinado con el principio activo. El medio vehículo puede comprender ácido hialurónico como polímero biocompatible que puede estar reticulado. Esta composición se puede formar de tal modo que sea inyectable y modifique su viscosidad, por ejemplo de fluida a muy viscosa o sólida, al ser insertada en el oído medio, tal como se ha descrito más arriba en el caso de los geles termoendurecibles. La liberación del principio activo contenido en el medio vehículo puede tener lugar por difusión, por arrastre por disolventes, electrodifusión, ósmosis, transporte activo/pasivo o combinaciones de los mismos.

10 En otra realización, el implante puede comprender un núcleo y como mínimo una membrana que lo recubre. El núcleo puede comprender la composición consistente en el o los principios activos disueltos o dispersos en el polímero o en los polímeros biocompatibles de ácido hialurónico. La membrana puede estar hecha de una composición polimérica igual o diferente a la del núcleo, o de una composición elastomérica. En este implante, la velocidad de liberación del principio activo se controla mediante las propiedades del núcleo y, opcionalmente, mediante las propiedades de la membrana o las membranas. Por consiguiente, la velocidad de liberación de los principios activos se puede controlar mediante el núcleo o la membrana solos o mediante la membrana junto con el núcleo. También es posible que la velocidad de liberación sea controlada principalmente por el núcleo y que la membrana sólo lleve a cabo el control final de la velocidad de liberación.

20 Cuando la membrana que encierra el núcleo consiste en dos o más capas, las composiciones poliméricas o elastoméricas utilizadas en cada capa pueden ser iguales o diferentes. La combinación de capas de membrana de espesor o material diferentes, o ambos, ofrece una posibilidad adicional para el control de la velocidad de liberación del o de los principios activos.

25 Cuando el implante comprende más de un principio activo farmacéutico, el núcleo puede consistir en una parte que incluya los diferentes principios activos disueltos o dispersos en la misma composición polimérica. En otra realización, el núcleo consiste en como mínimo dos partes, incluyendo cada parte como mínimo un principio activo farmacéutico. Las composiciones poliméricas de las diferentes partes del núcleo se pueden elegir de acuerdo con las velocidades de liberación deseadas de los diferentes principios activos y, por consiguiente, pueden ser iguales o diferentes en cada parte. Las diferentes partes del núcleo pueden estar dispuestas cerca una de la otra o de tal modo que una parte del núcleo encierre como mínimo parcialmente la otra parte del núcleo. Las diferentes partes del núcleo pueden estar distanciadadas entre sí y/o pueden estar separadas por una membrana de separación. Las membranas de separación pueden ser permeables o impermeables a como mínimo uno de los principios activos farmacéuticos. También es posible utilizar una membrana que sea permeable a un primer principio activo, pero impermeable a un segundo principio activo.

30 Materiales útiles para la membrana o las membranas del implante son, por ejemplo, elastómeros basados en siloxano, que son elastómeros preparados con siloxanos poli(disustituidos) en los que los sustituyentes son principalmente grupos alquilo inferiores sustituidos o no sustituidos o grupos fenilo. El poli(dimetilsiloxano) es un polímero de este tipo muy utilizado y preferente. También pueden ser adecuadas las membranas de copolímero de etileno-acetato de vinilo, que pueden actuar como barrera limitadora de velocidad para la difusión del principio activo.

35 La cinética de liberación del principio activo farmacológico no sólo se rige por la liberación de la composición, sino también, en una medida incluso potencialmente más importante, por el grado de permeabilidad de la estructura tisular interfacial del oído interno.

40 Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas de esta invención adecuadas para la administración tópica en el oído interno preferentemente contienen sustancias que aumentan la permeabilidad de la estructura tisular interfacial del oído medio, de modo que el principio activo farmacológico se pueda difundir en el oído interno en cantidades mayores en un período de tiempo dado o en una cantidad dada más rápidamente, o que una molécula más grande pueda pasar al oído interno. Sin embargo, este aumento de la permeabilidad se ha de producir sin alterar el equilibrio osmótico entre la perilinfa del oído interno y el espacio del oído medio y sin inducir toxicidad en la cóclea. Se ha de prestar una atención especial a la ototoxicidad potencial de las sustancias que aumentan la permeabilidad, que podrían pasar a través de la ventana redonda y tener un efecto citotóxico dentro del oído interno. Por ejemplo, se ha podido demostrar que la estreptolisina aumenta la permeabilidad de la ventana redonda, pero al precio de una cicotoxicidad.

45 Un ejemplo de sustancia que aumenta la permeabilidad de la estructura tisular interfacial del oído medio es la histamina. También se ha demostrado que el ácido hialurónico aumenta la permeabilidad de la estructura interfacial del oído interno sin ototoxicidad y, por ello, se utiliza como polímero biocompatible en la composición de la presente invención.

50 La composición de la presente invención también puede contener uno o más principios activos farmacológicos adicionales. Las composiciones óticas de acuerdo con la presente invención pueden comprender diversos ingredientes, incluyendo otros principios activos biológicos, como antibióticos, por ejemplo fluoroquinolonas, agentes antiinflamatorios, por ejemplo esteroides, cortisona, analgésicos, antipirina, benzocaína, procaína, antioxidantes, por ejemplo metionina,

N-acetilcisteína, trolox, neurotrofinas, por ejemplo GDNF o BDNF, agentes antiapoptóticos o antinecróticos, por ejemplo leupeptina, inhibidores de caspasa, etc.

5 Las composiciones farmacéuticas de esta invención adecuadas para la administración tópica en el oído interno contienen una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más ingredientes activos y, en la medida necesaria, otros componentes como soportes o vehículos, tampones, excipientes y aditivos inorgánicos u orgánicos, sólidos o líquidos, farmacéuticamente aceptables.

10 Los vehículos adecuados para la administración tópica son sustancias orgánicas e inorgánicas farmacéuticamente aceptables y que no reaccionan con los principios activos, por ejemplo soluciones salinas, alcoholes, aceites vegetales, alcoholes bencílicos, alquilenglicoles, polietilenglicoles, triacetato de glicerol, gelatina, hidratos de carbono como lactosa o almidón, magnesio, estearato, talco y vaselina. Los preparados indicados se pueden esterilizar y/o pueden contener sustancias auxiliares, por ejemplo lubricantes, conservantes como tiomersal (por ejemplo al 50%), estabilizadores y/o humectantes, emulsionantes, sales para influir en la presión osmótica, sustancias tampón, colorantes y/o sustancias aromatizantes.

15 Preferentemente se elige un excipiente tópico que no aumente el suministro del principio activo a la circulación sistémica o al sistema nervioso central al ser administrado en el oído. Por ejemplo, en general es preferible que el excipiente tópico no tenga propiedades oclusivas importantes que aumenten la transmisión percutánea a la circulación sistémica a través de la mucosa. Estos vehículos oclusivos incluyen bases de hidrocarburo, bases de absorción anhidras como vaselina hidrófila y lanolina anhidra (por ejemplo Aquaphor) y bases en emulsión de agua en aceite como lanolina y "cold cream". Son especialmente preferentes los vehículos esencialmente no oclusivos, que generalmente incluyen
20 vehículos hidrosolubles tales como bases en emulsión de aceite en agua (cremas o pomadas hidrófilas) y bases solubles en agua como vehículos basados en polietilenglicol y soluciones acuosas gelificadas con diversos agentes como metilcelulosa, hidroxietilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa (por ejemplo gel K Y).

25 Los especialistas pueden seleccionar de la forma habitual los excipientes y vehículos tópicos adecuados para un uso particular, y especialmente con referencia a alguno de los muchos textos estándar existentes en la técnica, por ejemplo Remington's Pharmaceutical Sciences, Vol. 18, Mack Publishing Co., Easton, PA (1990), en particular capítulo 87. Por ejemplo, los principios activos biológicos de acuerdo con la presente invención se pueden combinar con agentes promotores de la penetración de un principio activo.

30 La composición farmacéutica que contiene el o los principios activos, el o los polímeros biocompatibles y, en caso necesario, adyuvantes, por ejemplo conservantes, estabilizadores, humectantes, emulsionantes, agentes reticulantes, se puede preparar mediante cualquiera de los métodos conocidos en la técnica farmacéutica, por ejemplo mediante métodos de mezcla convencional, granulación, confección, disolución o liofilización.

35 La composición de la invención se utiliza para preparar un medicamento para tratar enfermedades del oído interno. Como ejemplos se indican el tratamiento del tinnitus, pérdidas de audición, inflamación o infección del oído interno, trastorno autoinmune del oído, vértigos, enfermedad de Ménière, degeneración celular del oído interno o degeneración celular del oído interno inducida por la edad.

La administración de la composición de la invención o del medicamento a un mamífero que padece una enfermedad del oído interno se puede llevar a cabo mediante diversas técnicas de suministro. Preferentemente se administra insertándola en el oído medio. El medicamento o en su caso el implante se puede administrar preferiblemente por infusión, inyección o deposición mediante un instrumento quirúrgico.

40 Estas técnicas incluyen el uso de dispositivos o vehículos farmacológicos para transportar y/o suministrar la formulación de forma dirigida a las estructuras tisulares interfaciales del oído interno, desde donde se difunde en el oído interno o se introduce por infusión activa. Como ejemplos se mencionan: bastoncillo (véase por ejemplo la patente US 6.120.484 de Silverstein), catéteres de ventana redonda (véanse por ejemplo las patentes US 5.421.818; 5.474.529; 5.476.446; 6.045.528; todas ellas de Arenberg; o 6.377.849 y su divisional 2002/0082554 de Lenarz), microimplantes (véase por ejemplo WO 2004/064912 de Jukarainen y col.) o dispositivos que se insertan en el conducto coclear o en cualquier otra parte de la cóclea (véase por ejemplo la patente US 6.309.410 de Kuzma). También incluyen el uso de inyecciones transtimpánicas, en las que la formulación se inyecta en el oído medio bore la zona de la estructura tisular interfacial del oído interno, como el nicho de la ventana redonda (véase por ejemplo Light J. y Silverstein H., *Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery* 12: 378-383 (2004)). La inyección se puede realizar directamente a través de
45 la membrana timpánica, a través de un tubo de ventilación insertado en la membrana timpánica o a través de una abertura de la membrana timpánica (por ejemplo mediante colgajo timpanomeatal). El volumen de la formulación a inyectar oscila típicamente entre 200 y 500 microlitros.

50 Las formulaciones que no pueden ser inyectadas o introducidas por infusión a través de alguno de los medios arriba mencionados, pueden ser depositadas sobre la estructura interfacial del oído medio diana a través de una pequeña
55 abertura practicada en la membrana timpánica con ayuda de instrumentos quirúrgicos.

La formulación se puede administrar antes, durante o después de la aparición del trastorno del oído interno. La cantidad a administrar puede variar en función del método de administración, la duración de la terapia, el estado del paciente a tratar y la gravedad del trastorno del oído interno, y finalmente será decidida por el médico. La duración de la terapia puede oscilar entre aproximadamente una hora y varios días, meses o semanas, y se puede prolongar hasta un tratamiento crónico. En caso de terapias de larga duración puede ser necesario administrar dosis repetidas de la formulación. La cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto a suministrar puede oscilar entre aproximadamente 0,1 nanogramos/hora y aproximadamente 100 microgramos/hora.

Una dosis terapéuticamente eficaz se define como una cantidad eficaz para suprimir o reducir el trastorno del oído interno en un individuo tratado. Una dosis terapéuticamente eficaz también es la cantidad eficaz para suprimir o reducir el trastorno del oído interno en el individuo aquejado. Como se indica más arriba, la dosis terapéuticamente eficaz puede variar en función de la elección del compuesto específico, la enfermedad específica a tratar y el método de administración. Por ejemplo, una dosis menor de una ketamina análoga con una mayor afinidad de unión puede ser más eficaz que una ketamina que se une con menor afinidad. Por consiguiente, son preferentes las arilcicloalquilaminas con mayores afinidades de unión.

La duración de la terapia también puede variar en función de la forma específica del trastorno del oído interno para la que se desee el tratamiento (agudo, subcutáneo o crónico). Como orientación, son preferibles las terapias de menor duración y éstas son suficientes cuando el trastorno del oído interno no es recurrente una vez terminada la terapia. Las terapias de mayor duración se pueden emplear con aquellos individuos en los que el trastorno del oído interno persiste después de una terapia corta.

La presente invención se explica más detalladamente mediante los siguientes ejemplos y las figuras adjuntas, sin limitar el alcance de la misma.

La Fig. 1 muestra la liberación acumulativa de S-(+)-ketamina a partir de formulaciones de gel de ácido hialurónico al 5% y al 7,5% en solución de tampón de fosfato, en función del tiempo. (A) El gel libera la ketamina rápidamente en ausencia de una membrana limitadora de la velocidad; después de sólo una hora ya se ha alcanzado casi el 50% de la concentración acumulativa total en PBS. La concentración de ácido hialurónico apenas tiene efectos en la velocidad de liberación. (B) El uso de una célula de Franz con una membrana de diálisis para imitar la membrana de la ventana redonda reduce significativamente la velocidad de liberación de ketamina en PBS, que en este caso tarda aproximadamente tres días. La velocidad de liberación parece ser mucho más lenta con una mayor concentración de ácido hialurónico. (C) Cuando se emplea una membrana de filtro en la célula de Franz, la liberación de ketamina se extiende a lo largo de aproximadamente 60 horas, siendo más lenta la liberación en el gel de un ácido hialurónico muy concentrado que en el gel con menor concentración.

La Fig. 2 muestra la concentración de S-(+)-ketamina en la perilinfa después de haber sido liberada de una formulación de ácido hialurónico al 2,8% que había sido dispuesta en el nicho de la ventana redonda de cobayas y después se había difundido dentro del oído interno a través de la membrana de la ventana redonda. En los tiempos correspondientes a 1 hora (1H), 3 horas (3H), 8 horas (8H), 24 horas (24H) y 3 días (3D) se tomaron muestras de la perilinfa para determinar la concentración de ketamina.

La Fig. 3 muestra la concentración de S-(+)-ketamina en la perilinfa después de haber sido liberada de una formulación de ácido hialurónico al 0,5% o de una formulación de poloxámero al 20%, que habían sido inyectadas sobre el nicho de la ventana redonda de cobayas y después se habían difundido dentro del oído interno a través de la membrana de la ventana redonda. Tres horas y 48 horas después de la administración se tomaron muestras de la perilinfa para determinar las concentraciones de ketamina.

Ejemplo 1

Métodos y materiales

La liberación del antagonista de receptor NMDA ketamina, que previamente ya había demostrado ser eficaz para el tratamiento del tinnitus coclear, de una formulación de gel de ácido hialurónico se evaluó mediante un método en dos etapas. En una primera etapa se realizaron experimentos *in vitro* para determinar la cinética de liberación de la formulación. Los resultados correspondientes se utilizaron después como punto de partida para estudios *in vivo* en animales.

Estudios in vitro

Se preparó una solución de ácido hialurónico (Hylumed, Genzyme Corp.) en concentraciones de un 5 y un 7,5% en una solución salina de tampón fosfato (PBS). A una concentración de un 8%, el gel era difícil de manipular debido a su alta viscosidad. Se disolvió clorhidrato de S-(+)-ketamina (Sigma-Aldrich) en una concentración de un 2% (peso/peso) equivalente a 73 mM. También se ensayaron concentraciones de un 0,5% y un 2,5% para evaluar la importancia del factor de carga del fármaco. La liberación del principio activo farmacéutico se midió en PBS, un líquido receptor común

para estudios de liberación controlada, sin ninguna membrana o utilizando una membrana de filtro o una membrana de diálisis (Spectropore) en una célula de Franz (PermeGear). Las membranas se emplearon para imitar la membrana limitadora de velocidad de la ventana redonda. El líquido se mantuvo constantemente a temperatura corporal. En la cámara inferior de la célula de Franz se introdujeron 5 ml de PBS como líquido receptor. El líquido receptor tenía una barra de agitación para someterlo a agitación continua. En la cámara superior se introdujeron aproximadamente 50 mg de gel y después se montó la célula. En diversos momentos se tomaron partes alícuotas (típicamente 1 ml) y se analizaron mediante espectrofotometría UV (Agilent 8453). Se midió la absorbancia a 215 nm y se calculó la concentración utilizando un coeficiente de extinción de 30 ml/mg cm. Como se conocía el volumen de la parte alícuota, se pudo determinar la cantidad total liberada. Cada vez que se tomaba una parte alícuota, en la cámara de la célula de Franz se introducía el mismo volumen de PBS.

Estudios in vivo

En base a los resultados de los estudios *in vitro* se ensayaron diversas concentraciones de ácido hialurónico (Hylumed Medical, peso molecular 2,4 millones, Genzyme Corp.) en cuanto a su permanencia en el nicho de la ventana redonda y su efecto potencial en la audición a través de la interferencia con la libertad de movimiento de la membrana de la ventana redonda. Se analizaron los umbrales de audición en cobayas pigmentados midiendo el potencial de acción compuesto (CAP) del nervio auditivo mediante un electrodo implantado sobre la membrana de la ventana redonda de los animales (con un electrodo de referencia colocado en un músculo del cuello). El electrodo de referencia y el electrodo de la ventana redonda se soldaron a una clavija fijada en el cráneo. Para este fin y para la administración de 2 microlitros de la formulación de gel en el nicho de la ventana redonda, la bulla del animal anestesiado se abrió mediante un procedimiento quirúrgico auricular posterior (acceso dorsal). Después, la bulla se cerró de nuevo con cemento dental (Texton, SS White Manufacturing) y las heridas se desinfectaron con una solución de betadine y se suturaron.

En primer lugar se preparó un gel con una concentración de un 5% en perilinfa artificial, que ya había sido probada previamente en los ensayos *in vitro*, y se depositó dentro del nicho de la ventana redonda de un cobaya con la punta de un instrumento quirúrgico previamente esterilizado. Después se inspeccionó visualmente la permanencia del gel dentro del nicho, es decir, si el gel se salía de éste o si se quedaba en su sitio. El CAP se midió justo antes de la administración del gel y de nuevo repetidas veces después de la administración. Dado que la viscosidad del gel era demasiado alta y que se observaban efectos transitorios en los niveles del umbral de audición, la concentración del gel se redujo (3,5%, 3,2%) finalmente a un 2,8%, un nivel en el que el gel se podía colocar convenientemente en el nicho de la ventana redonda y permanecía dentro de éste y en el que no se observaba ninguna pérdida de audición. Se ensayó un animal por concentración.

En un segundo paso se llevó a cabo un estudio farmacocinético con cobayas pigmentados con el fin de evaluar *in vivo* la difusión de ketamina desde una formulación de gel de ácido hialurónico dentro del oído interno a través de la membrana de la ventana redonda. Se analizaron las concentraciones del compuesto farmacéutico en la perilinfa en un total de 30 animales, 1 hora, 3 horas, 8 horas, 24 horas y 72 horas después de la administración del gel; en cada uno de estos tiempos se analizaron 6 animales.

Los animales fueron anestesiados con una dosis única de una inyección i.p. de 0,3 ml/kg de pentobarbital al 6% (Ceva sante animale) y se abrió la bulla del oído derecho utilizando un procedimiento quirúrgico auricular posterior (acceso dorsal). Después, sobre la membrana de la ventana redonda del oído interno se depositaron 2 microlitros de la formulación de gel hialurónico (2,8% Hylumed Sterile en perilinfa artificial, peso molecular 2,44 millones; Genzyme Corp.) con S-(+)-ketamina (Sigma-Aldrich) en una concentración de 1 miliM. En cada uno de los tiempos arriba mencionados, se decapitó un grupo de animales bajo anestesia profunda (pentobarbital 50 mg/kg). Después se extrajo la cóclea derecha del hueso temporal y se abrió la bulla. Se taladró un pequeño orificio en la cóclea mediante cocleostomía (diámetro 0,2 mm) en su base. A través de este orificio se tomó una muestra de 10 microlitros de perilinfa con una micropipeta de vidrio estéril (0,1 mm de diámetro en la punta) conectada con una microjeringa estéril a través de un catéter estéril. Después se analizaron las muestras mediante espectrometría de masas por cromatografía de líquidos con un límite de cuantificación de 0,2 ng/ml (instrumento HPLC: Perkin Elmer serie 200; detector de espectrómetro de masas: MSD Sciex API 4000 Applied Biosystems; columna: Zorbax SB CN 50x2,1 mm 5 µm-Agilent Technologies).

Resultados

50 *Estudios in vitro*

Como muestra la Fig. 1, el gel de ácido hialurónico libera la ketamina de forma relativamente rápida, es decir, en sólo unas horas. La cinética de liberación varía considerablemente cuando se emplea una membrana limitadora de velocidad, en cuyo caso el suministro se prolonga durante unos días. Con la concentración más alta, de un 7,5%, la formulación de gel de ácido hialurónico libera la ketamina más lentamente que a la concentración del 5%.

55 La carga de medicamento también influía de forma significativa en la cinética de liberación. Cuando el gel contenía un 0,5% de ketamina (en peso), el compuesto farmacéutico era liberado en la célula de Franz casi con la misma rapidez

que una solución de clorhidrato de cetamina simple. La cinética de liberación sólo se ralentizó perceptiblemente cuando se aumentó el factor de carga a un 2,5%. La liberación inicial fue bastante baja, habiéndose liberado sólo aproximadamente un 20% en la primera hora. Por consiguiente, parece que la utilización del mayor factor de carga posible ayudará a prolongar la cinética de liberación.

5 Estudios *in vivo*

Como muestra la Fig. 2, la concentración máxima de ketamina en la perilinfa del oído interno después de su difusión a través de la membrana de la ventana redonda desde un gel de ácido hialurónico al 2,8% se alcanza en el plazo de una hora. Después, la concentración disminuye rápidamente, observándose los últimos niveles cuantificables después de tres días. De estos resultados se pueden extraer varias conclusiones interesantes:

- 10 1) La formulación de gel puede liberar ketamina dentro del oído interno a lo largo de tres días - a pesar de una concentración mucho menor de ácido hialurónico (2,8% frente a un 5 y un 7,5%) y una carga de medicamento aproximadamente 73 veces menor (0,027% frente a un valor de hasta un 2,5% en peso) que en los experimentos *in vitro*. Por consiguiente, parece ser un tipo de formulación atractivo para el tratamiento de trastornos del oído interno.
- 15 2) Las concentraciones de ketamina medidas en la perilinfa parecen muy bajas en comparación con la concentración inicial del principio activo farmacológico en gel. Esto se puede explicar por la pérdida de ketamina en el oído medio, la absorción por la mucosa, la incapacidad del proceso de difusión pasiva para llevar una mayor cantidad del compuesto farmacéutico a la perilinfa, o un desalojo rápido del fármaco de la perilinfa. Además, la técnica de muestreo conduce a una tendencia descendente de las concentraciones medidas, ya que las cantidades mínimas requieren que se tome perilinfa también de partes del oído interno en las que el compuesto farmacéutico probablemente no ha sido distribuido. Es decir, se produce una dilución de las concentraciones. En la técnica es bien sabido que las concentraciones de compuestos farmacéuticos dentro de la cóclea son máximas en su base, mucho más bajas en la espira central y, en la mayoría de los casos, nulas en la región apical y más allá (scala vestibuli).
- 20 3) Dada la gran cantidad de parámetros que pueden influir en la cinética de liberación de una formulación de gel dispuesta en el nicho de la ventana redonda y en la difusión a través del nicho de la ventana redonda, los modelos *in vitro* han de ser considerados como muy limitados en su capacidad para evaluar cuándo y cómo un principio activo farmacológico para el tratamiento de un trastorno del oído interno es suministrado al interior del oído interno. Por consiguiente, el uso de un modelo *in vivo* apropiado parece imprescindible.
- 25

Ejemplo 2

- 30 Mientras que los experimentos anteriores exploraban la cinética de liberación de ketamina a partir de una formulación de gel más bien viscosa, que no podía ser inyectada en el oído medio, a continuación se intentaron evaluar dos formulaciones de gel inyectable, que ofrecen la ventaja de una mayor facilidad de manipulación.

Métodos y materiales

- 35 A un total de 16 cobayas pigmentados se les administraron 100 microlitros de una formulación de gel de ácido hialurónico (Hylumed Sterile, Genzyme Corp.) o de poloxámero (Lutrol F127, BASF) con contenido en clorhidrato de S-(+)-ketamina (Cristalina) a través de una jeringa de 1 ml conectada a una aguja. La mitad de los animales recibió gel de ácido hialurónico al 5% preparado en una solución tampón fosfato a pH 7,4 obtenida de acuerdo con la Farmacopea Europea (ref. 4005000). La ketamina se disolvió en el gel a una concentración 1 mM con un agitador magnético, a lo largo de la noche, a 4 grados Celsius. La otra mitad de los animales recibió un gel de poloxámero al 20% también a través de una jeringa de 1 ml conectada a una aguja. El gel se preparó añadiendo lentamente 600 mg de polvo Lutrol a 3 ml de la misma solución de tampón fosfato en un agitador magnético (500 rpm). El proceso de mezcla continuó después durante 16 horas, hasta obtener una solución clara con una viscosidad mínima. Como en el caso del gel de ácido hialurónico, la ketamina se disolvió en la solución de poloxámero a una concentración 1 mM con un agitador magnético, a lo largo de la noche. Inmediatamente después del contacto con el tejido del oído medio de los cobayas, el poloxámero se gelificó y se volvió casi sólido.
- 40
- 45

- Para inyectar las formulaciones de gel, los cobayas fueron anestesiados con una dosis única de una inyección i.p. de 0,3 ml/kg de pentobarbital al 6% (Ceva santé animale) y se abrió la bulla derecha del animal mediante un procedimiento quirúrgico auricular posterior (acceso dorsal). Después, la bulla se cerró de nuevo con cemento dental (Texton, SS White Manufacturing) y las heridas se desinfectaron con una solución de betadine y se suturaron. Tres horas después, 4 animales de cada grupo de formulación de gel fueron decapitados bajo anestesia profunda (pentobarbital 50 mg/kg) para tomar muestras de la perilinfa y el resto de los animales fue sacrificado 48 horas después. Se extrajo la cóclea derecha del hueso temporal y se abrió la bulla. Después se taladró un pequeño orificio en la cóclea mediante cocleostomía (diámetro 0,2 mm) en su base. A través de este orificio se tomó una muestra de 10 microlitros de perilinfa con una micropipeta de vidrio estéril (0,1 mm de diámetro en la punta) conectada con una microjeringa estéril a través de un catéter estéril. Después se analizaron las muestras mediante espectrometría de masas por cromatografía de
- 50
- 55

líquidos con un límite de cuantificación de 0,2 ng/ml (instrumento HPLC: Perkin Elmer serie 200; detector de espectrómetro de masas: MSD Sciex API 4000 Applied Biosystems; columna: Zorbax SB CN 50x2,1 mm 5 µm-Agilent Technologies).

Resultados

- 5 Como muestra la Fig. 3, el uso de una formulación de ácido hialurónico menos viscosa no cambió significativamente la concentración en la perilinfa 3 horas y 48 horas después de la administración. Esto demuestra que una formulación inyectable produce una concentración similar en el oído interno. La Fig. 3 muestra además que los poloxámeros también proporcionan una liberación eficaz a través de la membrana de la ventana redonda, mientras que la concentración en la perilinfa a las tres horas era más del doble de la concentración de ácido hialurónico. Esto se puede deber a cinéticas de liberación diferentes o al hecho de que la solidificación del gel dentro del nicho de la ventana redonda, que lo fijó localmente, permitía un mejor contacto con la membrana de la ventana redonda. Después de 3 horas, partes de la formulación de ácido hialurónico mucho más fluida ya pueden haber sido drenadas del nicho de la ventana redonda e incluso haber bajado por el espacio del oído medio hasta la faringe.
- 10

REIVINDICACIONES

1. Composición que contiene
- 5 i. como principio activo farmacéutico 2-(2-clorofenil)-2-(metilamino)ciclohexanona (ketamina) o una forma enantiomérica de ketamina o una sal farmacéuticamente activa de la misma, y
- ii. como polímero biocompatible gel de ácido hialurónico
- para su uso como un medicamento en la prevención o en el tratamiento de enfermedades del oído interno, donde el medicamento está formulado para la administración dentro del oído medio o en la estructura interfacial del oído medio y donde el principio activo farmacéutico está disuelto o suspendido en el gel de ácido hialurónico.
- 10 2. Composición para su uso como medicamento según la reivindicación 1, caracterizada porque la ketamina se proporciona en forma de sal clorhidrato de su forma de base libre.
3. Composición para su uso como medicamento según la reivindicación 1, caracterizada porque el principio activo farmacéutico es (S)-ketamina.
- 15 4. Composición para su uso como medicamento según las reivindicaciones 1 a 3, caracterizada porque la composición contiene al menos otro principio activo farmacéutico.
5. Composición para su uso como medicamento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 4, caracterizada porque contiene adicionalmente componentes seleccionados de entre el grupo consistente en vehículos, tampones, excipientes, aditivos y sustancias que aumentan la permeabilidad de la estructura tisular interfacial del oído interno, farmacéuticamente aceptables.
- 20 6. Composición para su uso como medicamento según la reivindicación 5, caracterizada porque la sustancia que aumenta la permeabilidad es histamina.
7. Composición para su uso como medicamento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizada porque el medicamento está formado como una formulación de liberación controlada de fármaco.
- 25 8. Composición para su uso como medicamento según la reivindicación 7, caracterizada porque el medicamento formulado como una formulación de liberación controlada de fármaco libera el principio activo farmacéutico a lo largo de varias horas o incluso hasta varias semanas.
9. Composición para su uso como medicamento según cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 8, caracterizada porque el medicamento es inyectable y varía su viscosidad al ser insertado dentro del oído medio.
- 30 10. Composición para su uso como medicamento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, caracterizada porque el medicamento modifica su perfil de liberación mediante la exposición a agentes químicos.
11. Composición para su uso como medicamento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, caracterizada porque el medicamento es para la liberación dirigida a la estructura tisular interfacial del oído medio diana mediante bioadhesión o por propiedades mecánicas.
- 35 12. Composición para su uso como medicamento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, caracterizada porque el medicamento se proporciona en forma de un implante.
13. Composición para su uso como medicamento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, caracterizada porque la enfermedad del oído interno se selecciona de entre tinnitus, pérdida de audición, inflamaciones o infecciones del oído interno, trastornos autoinmunes, vértigo o enfermedad de Ménière.
- 40 14. Composición para su uso como medicamento según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, caracterizada porque la enfermedad del oído interno se selecciona de entre degeneración celular del oído inducida por excitotoxicidad o degeneración celular del oído interno inducida por la edad.
15. Composición para su uso como medicamento según la reivindicación 1, caracterizada porque el medicamento se administra por infusión, por inyección o por deposición mediante un instrumento quirúrgico.

Figura 1 Liberación *in vitro* de ketamina de una formulación de gel de ácido hialurónico

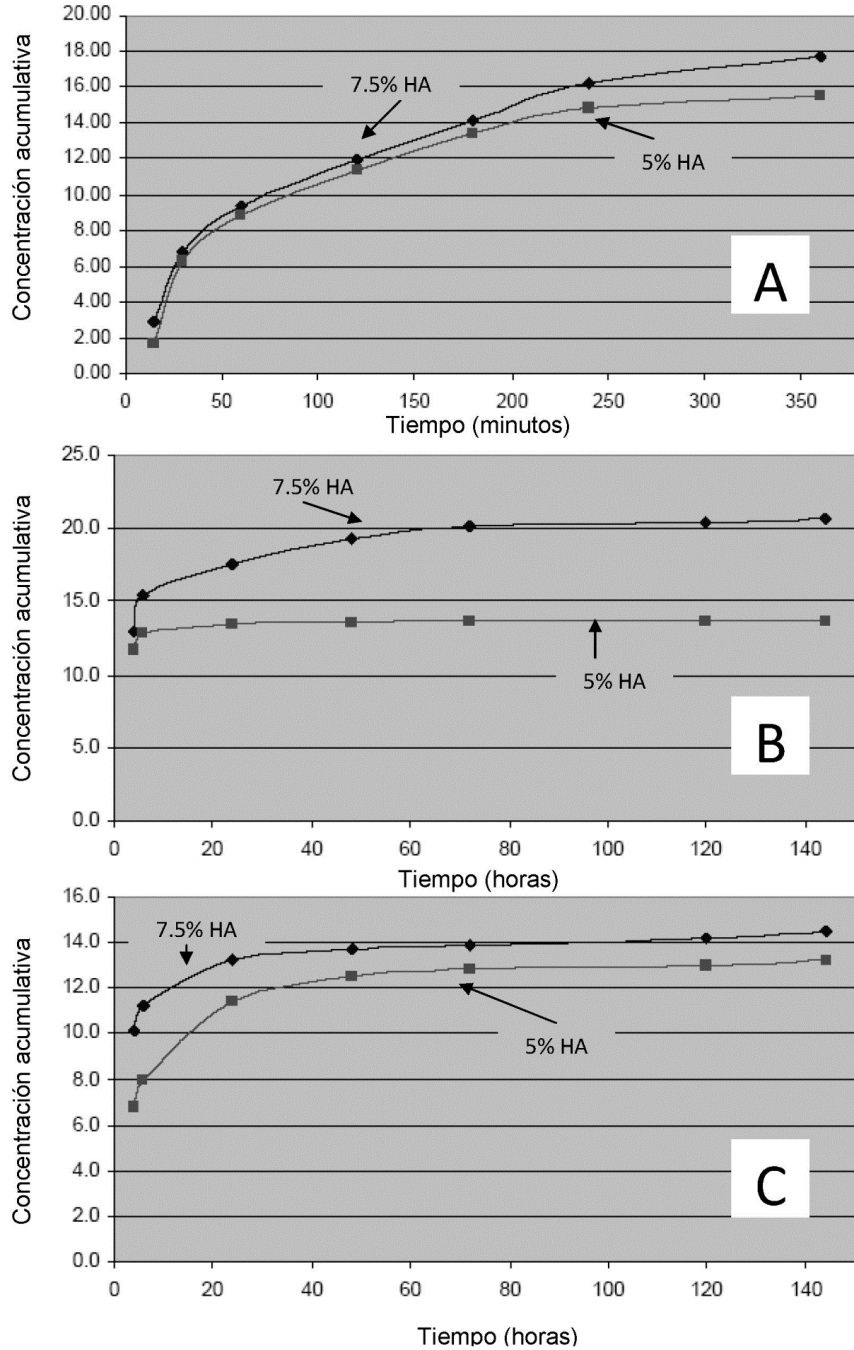


Figura 2

Liberación de ketamina de una formulación de ácido hialurónico al interior de la perilinfa coclear a través de la membrana de la ventana redonda

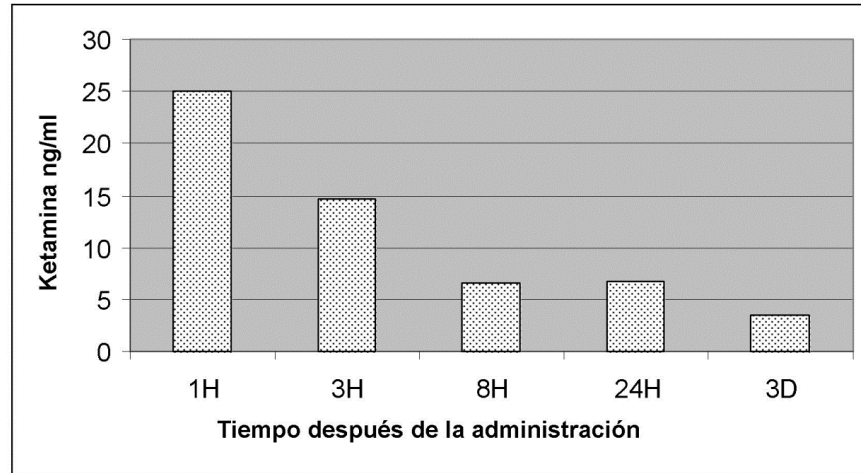


Figura 3

Liberación de cetamina de formulaciones con ácido hialurónico o poloxámero al interior de la perilinfa coclear a través de la membrana de la ventana redonda

