(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 534 763**

(51) Int. Cl.:

A61K 9/48 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61K 31/737 (2006.01)
A61K 38/39 (2006.01)
A61K 31/726 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **03.05.2007** **E 07724845 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.02.2015** **EP 2021078**

(54) Título: **Ácido hialurónico sulfatado para el tratamiento de la osteoartritis degenerativa**

(30) Prioridad:

31.05.2006 IT PD20060219

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
28.04.2015

(73) Titular/es:

FIDIA FARMACEUTICI S.P.A. (100.0%)
VIA PONTE DELLA FABBRICA 3-A
35031 ABANO TERME (PADOVA), IT

(72) Inventor/es:

CALLEGARO, LANFRANCO y
RENIER, DAVIDE

(74) Agente/Representante:

LAZCANO GAINZA, Jesús

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 534 763 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

Ácido hialurónico sulfatado para el tratamiento de la osteoartritis degenerativa

Objeto de la invención

La presente invención se refiere a las formulaciones orales basadas en ácido hialurónico sulfatado que son eficaces en el tratamiento de la osteoartritis degenerativa.

Campo de la invención

La osteoartritis (OA) es un trastorno muy común, que se caracteriza por la degeneración progresiva del cartílago articular que se adelgaza y se deteriora después de la pérdida del componente celular y extracelular, e incluso puede desaparecer por completo. Las causas de la enfermedad se han aclarado sólo parcialmente. Básicamente parecen implicar una serie de procesos desencadenados por un desequilibrio mecánico que afecta a toda la articulación, por ejemplo, después de un trauma o estrés mecánico. En el interior del cartílago existe un delicado equilibrio entre la destrucción de la matriz extracelular agotada y la formación de la matriz intacta. Todo esto depende en gran medida de las enzimas producidas por los condrocitos, un componente celular de la matriz articular. En el caso de una carga excesiva o desequilibrada sobre la articulación, se presenta una situación inflamatoria. Esto desencadena la liberación de citoquinas inflamatorias que, a su vez, estimulan los condrocitos para producir metaloproteasas (MMP), las enzimas responsables de la destrucción del cartílago, alterando así el equilibrio entre la síntesis y la degradación de la matriz extracelular. La literatura científica describe también en detalle los procesos de muerte celular que afectan a los condrocitos cuando entran en contacto con sustancias producidas por la degradación de la matriz (Cao y otros, Exp Cell Res, 1999, 246:527-37).

En vista de los factores descritos anteriormente, la osteoartritis degenerativa puede ser definida como una enfermedad crónica que normalmente se produce después de una etapa inicial aguda de la inflamación, conocida como osteoartritis inflamatoria. La presencia o ausencia de un estado inflamatorio en la articulación (causado por las citoquinas y MMP junto con otras sustancias) distingue la etapa inflamatoria aguda de la enfermedad (osteoartritis inflamatoria) de la etapa no inflamatoria crónica (osteoartritis degenerativa). La osteoartritis degenerativa no se produce solamente como la etapa crónica de osteoartritis inflamatoria, pero resulta además a partir del envejecimiento fisiológico del cartílago de la articulación.

La integridad de la matriz extracelular es por lo tanto crucial para la supervivencia de los condrocitos, y en consecuencia, esenciales para la salud de los cartílagos.

La matriz de cartílago es una estructura tridimensional que consiste en moléculas de **colágeno** y complejos agregados de **proteoglicanos,** los que a su vez se forman por

- un esqueleto de ácido hialurónico (HA),
- glicosaminoglicanos (GAG) que contienen unidades repetitivas de disacáridos de glucosamina o galactosamina, los que a su vez portan grupos carboxilos o sulfato cargados negativamente, y como resultado de esto los GAG forman largas cadenas cargadas negativamente,
- polipéptidos.

HA es una molécula de polisacárido con propiedades viscoelásticas considerables. Está presente en las cavidades articulares como un componente fundamental de fluido sinovial, donde actúa como un lubricante y agente de absorción de choques, y protege los condrocitos contra la acción de las citoquinas inflamatorias (Asari y otros, Arch Histol Cytol, 1995, 58:65-76; Brun y otros, Osteoarthr Cartil, 2003, 11:208-16; Stove y otros, J Orthop Res, 2002, 20:551-5). El HA, como tal o en forma derivatizada, se ha utilizado para tratar la osteoartritis degenerativa, ya sea como un "viscosuplemento" o un lubricante.

Los diversos productos incluyen (a modo de ejemplo) Hyalgan® (HA purificado a partir de crestas de gallo de acuerdo con EP 138572 B1), Synvisc® (Hylan G-F20, específicamente HA reticulado con formaldehído y divinil sulfona, como se describe en la patente US 4,713,448), y Artz® (HA con un PM de entre 620 y 1200 KDa), el cual puede administrarse solamente por vía intraarticular.

Los tratamientos orales de acuerdo con la técnica anterior implican la administración de GAG sulfatados tales como el sulfato de glucosamina y sulfato de condroitina en asociación con HA y colágeno hidrolizado, con el fin de promover la síntesis de HA en la cavidad articular, reducir la inflamación y proteger los condrocitos en una articulación osteoartrítica (US 6,645,948; US 6,476,005).

La evidencia científica demuestra claramente la eficacia de los GAG sulfatados para aumentar el contenido de

HA en el líquido sinovial de los pacientes que sufren de osteoartritis inflamatoria (McCarty y otros, Med Hypoth, 2000, 54:798-802; McCarty MF, Med Hypoth, 1998, 50:507-510).

Se conocen también otras patentes y solicitudes de patente que describen nuevos tratamientos para la osteoartritis inflamatoria que implican la administración intraarticular del HA en asociación con el sulfato de condroitina (US 6,906,044), o que reivindican el tratamiento oral con HA a determinadas dosis (patente US 6,607,745), posiblemente en asociación con glucosamina, sulfato de condroitina o sulfato de glucosamina (US 6,924,273); finalmente, se conoce el uso del HA con alto peso molecular para la prevención y tratamiento de la osteoporosis (solicitud de patente WO2005/032276).

Además del sulfato de glucosamina y del sulfato de condroitina, otro GAG sulfatado que se usa para la condroprotección es el HA, adecuadamente sulfatado tal como se describe en la técnica anterior, al que se atribuyen efectos antiinflamatorios, anticoagulantes e inhibidores de la adhesión celular.

En particular, US 2004 0,053,885 describe el uso de ácido hialurónico sulfatado (en lo adelante mencionado como HA-S) en el tratamiento intraarticular de la artritis inflamatoria, y la específicamente la artritis reumatoide (enfermedad autoinmunitaria), mientras que EP 754460 B1 reivindica el uso de HA-S en el tratamiento inyectable parenteral de estados inflamatorios, que incluyen el reumatismo articular.

Hamilton y otros, Cell Biol. International, 29(2005) 605-615, describe la capacidad del HA-S soportado en película de PET para preservar el fenotipo condrocito, una propiedad que puede ser ventajosa para la construcción de un cartílago por ingeniería.

La presente invención sustituye a la técnica anterior porque se relaciona con formulaciones basadas en HA sulfatado químicamente, para la administración oral, que frenan eficazmente la degeneración articular y promueven la reconstrucción de la matriz extracelular en las articulaciones afectadas por la osteoartritis degenerativa crónica, la que en consecuencia no está en la fase inflamatoria (estas composiciones, por lo tanto, no puede ser utilizadas para tratar la osteoartritis inflamatoria). De acuerdo con un aspecto particularmente preferido, la presente invención se relaciona con formulaciones basadas en HA modificado químicamente por sulfatación como se describe en EP 702699 B1: el Solicitante ha demostrado la eficacia terapéutica del HA-S en comparación con un tratamiento estándar basado en glicosaminoglicanos sulfatados en el tratamiento de la deficiencia de cartílago artrósico, y comparó su eficacia con el HA no sulfatado para demostrar la clara superioridad farmacológica del HA-S sobre GAG y HA.

Descripción detallada de la invención

El objeto de la presente solicitud está limitada por las reivindicaciones adjuntas.

La presente invención se refiere a formulaciones basadas en HA modificado químicamente por sulfatación, que son eficaces en el tratamiento oral de las formas crónicas de osteoartritis degenerativa sin secuelas inflamatorias.

Como ya se ha dicho, el proceso de osteoartritis degenerativa causa daño progresivo a la matriz extracelular en el cartílago de la articulación. Este daño se manifiesta por el adelgazamiento de la matriz y la pérdida del componente de condrocitos; el proceso culmina con la destrucción total del cartílago articular. El trastorno puede manifestarse como la forma crónica de la osteoartritis inflamatoria o representa el desarrollo fisiológico del proceso de envejecimiento de la articulación.

Desde el punto de vista morfológico, el cartílago puede dividirse en cuatro zonas diferentes, desde la superficie de la articulación al hueso subcondral, específicamente:

- zona I: la parte más externa más fina, que está sólo parcialmente celularizada,
- zona II: la zona de transición, que contiene el mayor porcentaje de las células y es básicamente responsable de la producción de la matriz,
- zona III: la zona radial, que es la más grande; todo el espesor del cartílago depende de su estructura,
- zona IV: la zona calcificada, una capa delgada que separa la zona radial desde el hueso subcondral.

Cuanto más profunda es la zona afectada, más grave es el daño causado por la osteoartritis degenerativa. Se desarrolla con los mismos procesos, e involucra las mismas zonas, ya sea debido a la enfermedad inflamatoria o resultados del envejecimiento fisiológico de la articulación causado por la edad avanzada o por sobrecarga.

Un tratamiento farmacológico capaz de proporcionar la matriz extracelular con los "bloques de construcción" que necesita de los proteoglicanos para reconstruir su compleja estructura, a fin de fortalecer su esqueleto que soporta la carga y evitar la pérdida de células, sería más útil en la fase crónica del trastorno. Esta invención demuestra que la administración de ácido hialurónico sulfatado representa una aproximación terapéutica válida

para estos propósitos porque este aumenta, dentro de la articulación, la presencia del material que constituye el "andamiaje" de la matriz de cartílago, asegurando su integridad estructural, e impidiendo su descelularización. Por lo tanto, las formulaciones de la invención pueden usarse además para la prevención de daño del cartílago.

El ensayo *in vivo* desarrollado por el Solicitante demuestra que el HA-S retarda la degradación y estimula la regeneración de la estructura básica de la matriz extracelular en un grado sorprendentemente mayor que otros GAG y HA no sulfatado.

El ácido hialurónico sulfatado adecuado para los propósitos de la invención se prepara de acuerdo con un proceso descrito en EP 702699 B1: la sulfatación se lleva a cabo con el complejo SO_3-piridina, e involucra los hidroxilos alcohólicos presentes en la cadena de polisacárido.

El grado de sulfatación puede variar entre 0.5 y 3.5 (EP 0940410 B1), y está preferentemente entre 0.5 y 1.5 (el grado promedio se define como grupo sulfato a grupo disacárido 1:1), comenzando a partir del HA con diferentes pesos moleculares, que varían de 50.000 a 800.000 D, preferentemente 100.000 a 230.000 D, usando HA producido por la extracción, fermentación o medios tecnológicos.

El derivado obtenido mantiene todas las características físicas del polímero de partida; en particular, el peso molecular del HA no cambia por el proceso sulfatación, en consecuencia, permite que se mantenga la misma viscosidad que la del polisacárido de partida.

Los experimentos descritos más abajo se realizaron mediante la comparación del HA-S producido por fermentación, que tiene un peso molecular promedio de 180/200 KD y un grado de sulfatación promedio de 1, con un tratamiento de referencia basado en Condral® (sulfato de galactosaminoglucuronoglicano, la forma despolimerizada del sulfato de condroitina) y con un tratamiento basado en HA (con un peso molecular de 180/200 KD) contra el control sin tratar.

Diseño del ensayo: inducción y tratamiento de la osteoartritis degenerativa

Los experimentos se realizaron en conejos adultos, en estricto cumplimiento de la legislación vigente. Se indujo la osteoartritis degenerativa de la rodilla derecha unilateralmente mediante resección quirúrgica del ligamento cruzado anterior de acuerdo con un modelo experimental bien establecido (Yoshimi y otros, Clin Orthop Relat Res, 1994, 298:296-304). El modelo experimental usado no desencadena un proceso inflamatorio, como se demuestra por la ausencia total de infiltrados de plasma en las cavidades de la articulación de todos los animales tratados, que incluyen los controles (Tabla). La ablación quirúrgica del ligamento, por consiguiente, representa un buen ejemplo de osteoartritis degenerativa experimental, que permite la evaluación farmacológica correcta de las formulaciones ensayadas.

Los animales se dividieron en 4 grupos homogéneos (6 animales por grupo) y se trataron por vía oral, 24 horas después de la cirugía, todos los días durante 61 días, con:

- solución salina 0.9% de NaCl (Control);
- HA-S a la dosis de 5.5 mg/kg;
- HA a la dosis de 20 mg/kg;
- Condral® a la dosis de 20 mg/kg.

Al final del tratamiento se sacrificaron los animales y se examinaron macroscópicamente para comprobar la ausencia de toxicidad sistémica. A continuación, los cóndilos lateral y medial del fémur con la placa tibial se fijaron en formalina tamponada al 10% y se embebieron en cera de parafina. Las preparaciones se procesaron después, por un método conocido por un experto en la técnica, para obtener secciones analizables bajo el microscopio óptico después de la tinción con hematoxilina-eosina.

El tejido de cartílago eliminado de los cóndilos femorales medial y lateral se sometió a análisis histopatológico semicuantitativo y análisis histomorfométrico. En particular, los parámetros relativos a la degeneración, la integridad estructural del cartílago y el grado de abrasión en el espesor del cartílago se tomaron en consideración.

Análisis de los resultados

Tabla:

Grupo	Membrana sinovial: infiltrados de plasma	Tejido del cartílago: infiltrados de plasma
control	0	0
HA-S	0	0
HA	0	0
Condral	0	0

Como ya se ha dicho, la falta total de infiltrados de plasma en el fluido sinovial y el cartílago confirma la ausencia completa de inflamación en la cavidad de articulación en los controles tratados con NaCl y en todos los grupos estudiados.

El análisis macroscópico de los animales y sus órganos demostraron además la falta de toxicidad sistémica de las composiciones farmacológicas probadas.

La Figura 1 resume los datos de recolección a partir del examen del cartílago: en el grupo de animales tratados con solución salina (controles), fue evidente una degeneración seria caracterizada por alteración morfológica del componente celular. La situación de los animales tratados con Condral® fue mejor; en este caso se estimó la degeneración cartílago en 2.8, y por lo tanto fue moderada/marcada; es importante destacar que este resultado es muy similar al obtenido con el tratamiento con HA. El cartílago de los animales tratados con HA-S se encontraba en una situación mucho mejor: el nivel de degradación fue leve (1,7). La administración oral de HA-S por lo tanto, resultó eficaz para retrasar significativamente el proceso de degradación del cartílago de las articulaciones afectadas por la osteoartritis degenerativa.

Una segunda evaluación importante se refiere al análisis de la integridad estructural del tejido del cartílago, que se mide, de acuerdo con las normas reconocidas, en términos de la irregularidad de la superficie y de la estructura del cartílago (Figura 2). Este gráfico, como el precedente, confirma que el tratamiento con HA-S ayuda a mantener buena integridad estructural, en un grado significativo comparado con los controles, y comparado además con el tratamiento con Condral®. El grupo de animales tratados con HA-S presentó solamente ligeras grietas en la zona de cartílago de transición, mientras que los tratados con Condral® presentaron lesiones marcadas de la zona radial; el hallazgo relativo al tratamiento con HA, que resultó ser de nuevo tan eficaz como Condral®, es particularmente interesante.

Finalmente, la Figura 3 ilustra la profundidad de la lesión a lo largo de todo el espesor del cartílago, la lesión máxima es una que causa exposición del tejido óseo seguido de la pérdida total del cartílago.

Los datos ilustran los valores medios de las lesiones de los cóndilos medial y lateral; una vez más se confirmó que el tratamiento oral con HA-S es más eficaz que el tratamiento con Condral® o el tratamiento con HA solo para preservar la integridad de la matriz del cartílago.

El análisis de los datos presentados indica claramente que el HA-S es más eficaz que los GAG sulfatados y HA en el tratamiento de la osteoartritis no inflamatoria, cuando resulta de trauma/enfermedad o el proceso de envejecimiento normal de la articulación.

Si es necesario, el HA-S posiblemente podría estar asociado con otras moléculas útiles para fortalecer la matriz extracelular, como el colágeno (posiblemente hidrolizado) u otros GAG, o con otras sustancias farmacológicamente y/o biológicamente activas tales como factores y/u hormonas de crecimiento, vitaminas (especialmente las vitaminas A, C, D, y E, y del grupo B en general), antibióticos y sales minerales (especialmente sales de calcio, magnesio y selenio y otros elementos traza). Los procedimientos descritos y reivindicados en la presente descripción, por tanto, representan una clara mejora sobre los tratamientos orales actuales para el trastorno en cuestión.

Algunos ejemplos de preparación de las formulaciones que contienen HA-S de la invención, para la administración oral, se describen a continuación a modo de ejemplo y no de limitación. El HA-S puede formularse en todas las formas conocidas de acuerdo con el estado de la técnica en asociación con estabilizadores, excipientes, conservantes y/u otra sustancia que se considere útil para obtener la mejor formulación posible, para la preparación de granulados, suspensiones, soluciones, cápsulas y tabletas.

Formulaciones Orales

El HA usado en estas formulaciones tiene un grado de sulfatación promedio de 1, y un peso molecular promedio de 180/200 KD; la concentración del ingrediente activo varía entre 50 y 400 mg por unidad de dosis.

Ejemplo 1

Cápsula de gelatina rígida de HA-S 75 mg

Constituyente	**Cantidad (mg /cápsula)**
Ingrediente activo:	
HA-S	75
Excipientes	
Lactosa	csp la capacidad de la cápsula 00
Almidón de maíz	16.5
Dióxido de silicio coloidal anhidro	7.7
Estearato de magnesio	3.3

Mezclar inicialmente el HA-S, lactosa, almidón de maíz y dióxido de silicio coloidal anhidro. Adicionar estearato magnésico a la premezcla obtenida, y mezclar. Distribuir la mezcla final entre las cápsulas de gelatina rígidas formato 00.

Ejemplo 2

Cápsula de gelatina rígida de HA-S 200 mg

Constituyente	**Cantidad (mg /cápsula)**
Ingrediente activo:	
HA-S	200
Excipientes	
Celulosa microcristalina	csp la capacidad de la cápsula 00
Almidón de maíz	35.1
Dióxido de silicio coloidal anhidro	5
Estearato de magnesio	5

Mezclar inicialmente el HA-S, celulosa microcristalina, almidón de maíz y dióxido de silicio coloidal anhidro. Adicionar estearato magnésico a la premezcla obtenida, y mezclar. Distribuir la mezcla final entre las cápsulas de gelatina rígidas formato 00.

Ejemplo 3

Cápsula de gelatina rígida de HA-S 400 mg

Constituyente	Cantidad (mg /cápsula)
Ingrediente activo:	
HA-S	400
Excipientes	
Celulosa microcristalina	csp la capacidad de la cápsula 00
Almidón de maíz	35.1
Dióxido de silicio coloidal anhidro	5
Estearato de magnesio	5

Mezclar inicialmente el HA-S, celulosa microcristalina, almidón de maíz y dióxido de silicio coloidal anhidro. Adicionar estearato magnésico a la premezcla obtenida, y mezclar. Distribuir la mezcla final entre las cápsulas de gelatina rígidas formato 00.

Ejemplo 4

Granulado de HA-S 400 mg

Constituyente	Cantidad (mg /sobre)
Ingrediente activo:	
HA-S	400
Excipientes	
Celulosa microcristalina	65
Almidón de maíz	15.5
Sorbitol	2250
Polivinilpirrolidona	47.5
Ácido cítrico	10
Aspartamo	32
Saborizante de naranja	180

Mezclar inicialmente el HAS1, celulosa microcristalina y almidón de maíz. Mezclar con la solución aglutinante que consiste en agua y polivinilpirrolidona. Cuando la mezcla está uniformemente húmeda, granular a través de un tamiz de 2 mm. Secar el granulado, y después tamizar el granulado seco, forzándolo a través de un tamiz de 0.8 mm. Mezclar el granulado en polvo con sorbitol, ácido cítrico, aspartamo y saborizante de naranja. Llenar los sobres con el granulado.

REIVINDICACIONES

1. Composiciones farmacéuticas que contienen como el ingrediente activo ácido hialurónico sulfatado de peso molecular entre 50.000 y 800.000 D que tiene un grado de sulfatación entre 0.5 y 3.5 para usar en la prevención y/o tratamiento de daño del cartílago causado por osteoartritis degenerativa y/o desgaste debido al envejecimiento de la estructura de la articulación, en donde la composición se administra oralmente.

2. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el peso molecular del ácido hialurónico es entre 100.000 y 230.000 D.

3. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el peso molecular del ácido hialurónico es entre 500.000 y 750.000 D.

4. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el grado de sulfatación del ácido hialurónico sulfatado es entre 0.5 y 1.5.

5. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el ácido hialurónico se produce por extracción, fermentación o medios tecnológicos.

6. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicaciones 1-5, que contiene colágeno y/o colágeno hidrolizado y/o glicosaminoglicanos.

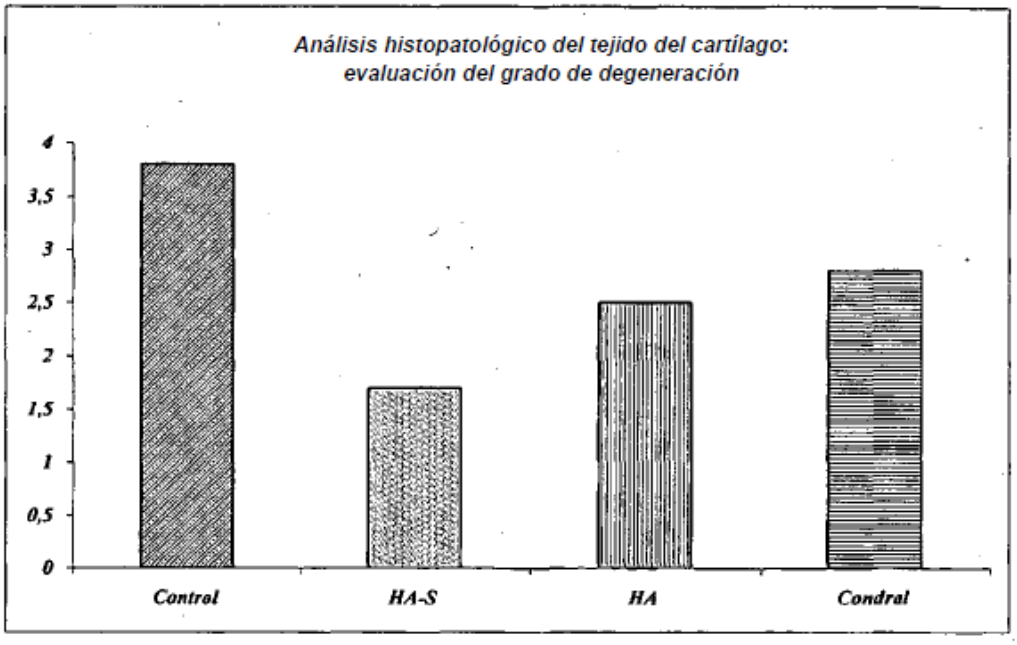
7. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicaciones 1-6, que contiene sustancias farmacológicamente y/o biológicamente activas.

8. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde las sustancias farmacológicamente y/o biológicamente activas se seleccionan del grupo de vitaminas y/o sales minerales y/u hormonas y/o antibióticos y/o factores de crecimiento.

9. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la concentración de ácido hialurónico sulfatado es entre 75 y 400 mg por unidad de dosis.

10. Composiciones farmacéuticas para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 en donde se tratan las formas crónicas de osteoartritis degenerativa sin secuelas inflamatorias.

Figura 1



Escala de degeneración:

0: ninguna

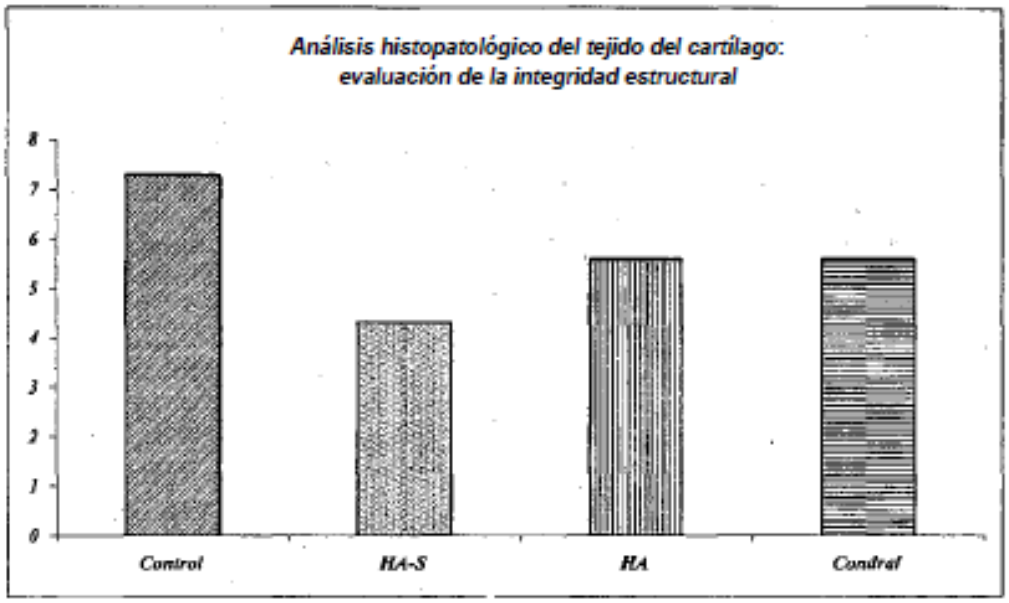
1: ligera

2: moderada

3: marcada

4: muy marcada/seria

Figura 2



Escala de la integridad estructural (Yoshimi y otros, Clin Orthop, 1994, 298:296-304):

0: normal

1: irregularidad de la superficie ligera

2: irregularidad de la superficie moderada

3: irregularidad de la superficie seria

4: fisuras en la zona de transición

5: fisuras en la zona radial

6: fisuras en la zona calcificada

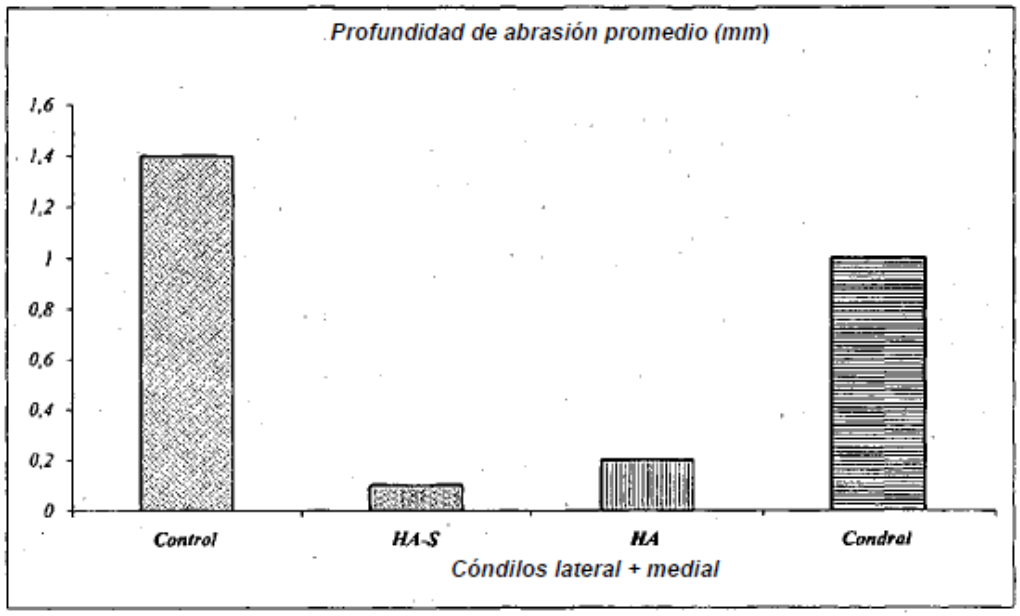
7: pérdida de la zona de transición

8: pérdida de la zona radial

9: pérdida de la zona calcificada

10: completa desorganización

Figura 3


Profundidad de abrasión promedio (mm)
1,6
1,4
1,2
1
0,8
0,6
0,4
0,2
0
Control
HA-S
HA
Condral
Cóndilos lateral + medial