

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 536 982**

51 Int. Cl.:

**A61P 19/00** (2006.01)

**A61P 25/00** (2006.01)

**A61K 38/51** (2006.01)

**A61K 9/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.12.2011 E 11848463 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.03.2015 EP 2653168**

54 Título: **Condroitinasa ABC para tratar hernia discal**

30 Prioridad:

**13.12.2010 JP 2010277490**

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

**01.06.2015**

73 Titular/es:

**SEIKAGAKU CORPORATION (100.0%)  
6-1 Marunouchi 1-chome Chiyoda-ku  
Tokyo 100-0005, JP**

72 Inventor/es:

**SIROGANE, TAIICHI;  
MURAYAMA, TAKAO y  
YAGUCHI, MASAFUMI**

74 Agente/Representante:

**MARTÍN BADAJOZ, Irene**

**ES 2 536 982 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**

Condroitinasa ABC para tratar hernia discal

**5 Campo técnico**

La presente invención se refiere a condroitinasa ABC para su uso en un método de tratamiento de hernia discal en un humano.

**10 Técnica anterior**

La hernia discal es una enfermedad que provoca dolor en las piernas, lumbago y similares debido a la presión sobre nervios de la médula espinal, y similares, atribuida a la protrusión del tejido del disco en el canal vertebral debido a que el núcleo pulposo perfora el anillo fibroso presente alrededor del mismo. Se ha notificado que el principio terapéutico es una terapia conservativa y aproximadamente el 90% de los casos se han curado mediante tal terapia conservativa. Como terapia conservativa, se han realizado diversos tratamientos, tales como reposo, reposo en cama, medicación (fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), corticosteroides, relajantes musculares), ortesis espinal (corsé), terapia de tracción, termoterapia, bloqueo epidural, bloqueo de la raíz nerviosa y terapia de ejercicio. Si no se observa mejora en estas terapias conservativas, se selecciona una terapia quirúrgica, y se han aplicado operaciones quirúrgicas al 10-30% de todos los pacientes con hernia discal lumbar. En los últimos años, se ha diseñado quimionucleólisis con el fin de reducir la invasión y carga debida a cirugía.

La quimionucleólisis es un método de inyección de una enzima en el disco para provocar la nucleólisis del núcleo pulposo y reducir la presión interna del disco de modo que se reduzca la presión sobre las raíces de nervios espinales.

Hasta ahora, se ha notificado un método de uso de quimopapaína como enzima que va a inyectarse en el disco, y su eficacia se notificó en 1964 (documento no de patente 1). Sin embargo, la quimopapaína también actúa sobre el tejido circundante del disco que incluye no sólo el núcleo pulposo sino también la médula espinal, y su comercialización como medicamento se ha interrumpido en la actualidad debido a que se encontraron graves complicaciones neurológicas (paraplejía, mielitis transversal, hemorragia cerebral, hemorragia subaracnoidea, tetraplejía, etc.) (documento no de patente 2).

Por tanto, actualmente ningún medicamento para quimionucleólisis está disponible comercialmente y se desea el desarrollo de un medicamento que pueda realizar quimionucleólisis de manera segura.

Se considera que la condroitinasa ABC descompone las cadenas de glucosaminoglicano de proteoglicanos presentes en el núcleo pulposo (tales como cadenas de sulfato de condroitina y cadenas de ácido hialurónico) reduciendo la presión intradiscal debido a la reducción de la alta capacidad de retención de agua del proteoglicano, dando como resultado la reducción de la presión sobre las raíces de nervios espinales. Además, al contrario que la quimopapaína, en 1985 se notificó que se esperaba que la condroitinasa ABC fuera un medicamento seguro con casi ninguna lesión a tal tejido neural que rodea al disco y se intentó el uso de condroitinasa ABC como enzima que va a inyectarse en el disco (documento de patente 1, documento no de patente 3, documento no de patente 4).

Sin embargo, dado que el disco también tiene originalmente una función de amortiguación para soportar el peso aplicado a la columna vertebral, la función de amortiguación que debería tener el disco originalmente se ve alterada si se elimina el núcleo pulposo en exceso. De hecho, en pacientes con reducción de la altura de disco en al menos un 30% mediante tratamiento quirúrgico, se muestra que hay una posibilidad de dolor de espalda que es persistente (documento no de patente 5). Por tanto, si el núcleo pulposo experimenta nucleólisis en exceso incluso en quimionucleólisis mediante administración de condroitinasa ABC, la función de amortiguación del disco que debería tener originalmente se ve alterada dando como resultado que se conduce a una posibilidad de efectos secundarios adversos.

Además, dado que la condroitinasa ABC es una proteína heteróloga que no está presente en seres humanos, es necesario obtener una terapia satisfactoria en tan sólo una única dosis en vez de múltiples dosis, también desde el punto de vista de prevención del choque anafiláctico o similares. Completar la terapia en una administración de una única dosis significa que se requiere mostrar un efecto terapéutico significativo en tan sólo una administración de una única dosis y derivar la dosis óptima con pocos efectos secundarios adversos porque no puede realizarse la administración de múltiples dosis hasta una recuperación completa.

Además, se han llevado a cabo muchos estudios sobre la degeneración de discos en modelos animales, pero se requería más atención y esfuerzo de estudio para aplicar los resultados en modelos animales al estudio de la degeneración de discos en seres humanos debido al hecho de que los discos varían entre diferentes especies animales (documento no de patente 6).

La naturaleza especial de una administración de una única dosis y la dificultad de aplicar modelos animales a seres

humanos tal como se describió anteriormente hacen que la quimionucleólisis con condroitinasa ABC sea difícil y, de hecho, aún no se ha obtenido el uso práctico de condroitinasa ABC incluso en la actualidad, aunque hayan pasado 25 años desde 1985 como se describió anteriormente.

5 El documento de patente 1 describe que la hernia discal se trata mediante administración de condroitinasa ABC en un disco de modo que el núcleo pulposo experimenta nucleólisis y se obtuvo un efecto terapéutico sobre la hernia discal mediante administración de condroitinasa ABC en una cantidad de 100 unidades por disco en un disco humano. Sin embargo, aún no se ha determinado su dosis eficaz porque el efecto no es suficiente y no se ha realizado la investigación sobre los efectos secundarios adversos. Además, el documento no de patente 3 describe  
10 que se obtuvo un efecto terapéutico sobre la hernia discal mediante administración de condroitinasa ABC en una cantidad de 0,5 unidades por disco en un disco humano. El documento no de patente 4 describe que se administró condroitinasa ABC en un disco de perro en una cantidad de 0,5-1, 2,5-5 y 5-10 unidades por disco, pero cuando se convierte esta dosis a la dosis para seres humanos, llega a ser aproximadamente al menos 35 unidades porque el volumen del núcleo pulposo humano es aproximadamente 70 veces en comparación con el del núcleo pulposo de  
15 perro. Sin embargo, no se ha llevado a cabo un estudio detallado de los efectos secundarios adversos tras la administración de condroitinasa ABC.

Por tanto, no se ha dado a conocer ni se ha sugerido la dosis óptima de condroitinasa ABC que muestra el máximo efecto terapéutico y el mínimo efecto secundario.

## 20 **Técnica anterior**

### DOCUMENTO DE PATENTE

25 Documento de patente 1: patente estadounidense n.º 4696816.

### DOCUMENTOS NO DE PATENTE

Documento no de patente 1: Smith L. Enzyme dissolution of the nucleus pulposus in humans. JAMA 1964(2); 187: 137-40.

Documento no de patente 2: US Federal Register. Lunes, 27 de enero de 2003; 68(17): 3886-7.

Documento no de patente 3: Rinsho Seikei Geka (The Journal of the Japanese Clinical Orthopaedic Association) vol. 42, n.º 3, páginas 223-228, marzo de 2007.

Documento no de patente 4: SPINE, 1991; 16(7): 816-19.

Documento no de patente 5: SPINE, 1996; 21(13): 1556-64.

Documento no de patente 6: Eur Spine J, 2008; 17: 2-19.

## 30 **Sumario de la invención**

### PROBLEMAS QUE VA A SOLUCIONAR LA INVENCIÓN

35 Tal como se describió anteriormente, se ha notificado que la condroitinasa ABC es útil como principio activo de un medicamento para quimionucleólisis, pero aún no se ha puesto la condroitinasa ABC en uso práctico debido a que graves efectos secundarios adversos provocados por la disolución en exceso del núcleo pulposo también son una preocupación y se desconoce si puede mostrarse o no un efecto terapéutico fiable en tan sólo una única dosis y si hay o no una dosis sin efectos secundarios adversos.

40 El problema de la presente invención es proporcionar un agente terapéutico para hernia discal, que tenga extremadamente pocos efectos secundarios adversos, pueda lograr un efecto de mejora del dolor prolongado cuando se administra en tan sólo una única dosis y pueda mostrar un alto efecto terapéutico y una alta seguridad en aplicaciones clínicas.

### 45 MEDIOS PARA RESOLVER EL PROBLEMA

Como resultado de intensos estudios adicionales sobre el tratamiento con condroitinasa ABC por los presentes inventores, se ha encontrado sorprendentemente que mediante la administración de condroitinasa ABC en una cantidad específica, pueden reducirse los efectos secundarios adversos y se muestra un efecto de mejora del dolor prolongado/un alto efecto terapéutico en aplicaciones clínicas, y por tanto se ha completado la presente invención.

Es decir, se ha encontrado que no sólo pueden esperarse efectos terapéuticos sino que también pueden reducirse los efectos secundarios adversos a una dosis de 1-3 unidades de condroitinasa ABC por disco en un disco humano, y que puede proporcionarse un agente terapéutico excelente para hernia discal que usa condroitinasa ABC y es práctico.

5 Un aspecto de la presente invención es condroitinasa ABC para su uso en un método de tratamiento de hernia discal en un humano, comprendiendo el método administrar la condroitinasa ABC en una única dosis en un disco afectado en una cantidad de 1-3 unidades por disco, siendo una unidad de condroitinasa ABC la cantidad que libera 1  $\mu\text{mol}$  de disacárido insaturado por minuto cuando se deja reaccionar con sulfato de condroitina C como sustrato a un pH de 8,0 y una temperatura de 37°C.

En las reivindicaciones dependientes se exponen aspectos preferidos de la invención.

#### EFFECTOS DE LA INVENCION

15 Según la presente invención, puede proporcionarse un agente terapéutico para hernia discal, que tiene menos efectos secundarios adversos, puede completar la terapia de hernia discal en tan sólo una única dosis, es seguro, tiene un alto efecto terapéutico y una alta utilidad clínica, y es altamente práctico.

20 La presente invención pretende aclarar por primera vez la existencia de una dosis que es segura y tiene un alto efecto terapéutico así como una utilidad clínica en quimionucleólisis con condroitinasa ABC, y también aclarar por primera vez el intervalo limitado de la dosis que incluye 1-3 unidades, contribuyendo en gran medida a un uso práctico de la quimionucleólisis mediante la administración de condroitinasa ABC.

#### 25 Breve descripción de los dibujos

La figura 1 es un gráfico que muestra la transición de dolor de pierna en el peor momento (VAS) tras la administración de un agente terapéutico.

30 La figura 2 es un gráfico que muestra la tasa de incidencia de efectos secundarios adversos por grupo de administración de cada unidad.

La figura 3 es un gráfico que muestra la tasa de reducción promedio para la altura de disco por grupo de administración de cada unidad.

#### 35 Modos para llevar a cabo la invención

A continuación se describen realizaciones de la presente invención.

#### 40 (1) Principio activo del agente terapéutico de la presente invención

La condroitinasa ABC usada como principio activo de la presente invención no está particularmente limitada siempre que sea una enzima que tiene una acción de condroitinasa ABC. Aunque su origen tampoco está particularmente limitado, la condroitinasa ABC deriva preferiblemente de microorganismos y preferiblemente deriva de *Proteus vulgaris*.

El método para preparar tal condroitinasa ABC tampoco está particularmente limitado, y la condroitinasa ABC puede prepararse, por ejemplo, cultivando un microorganismo tal como *Proteus vulgaris* y similares o mediante técnicas de ingeniería genética usando un ADN que codifica para la condroitinasa ABC.

50 La condroitinasa ABC como tal es preferiblemente una enzima que está purificada hasta el grado en que puede usarse como medicamento y no contiene ningún contaminante médicamente inaceptable.

Más específicamente, tal condroitinasa ABC tiene una actividad enzimática de 270 unidades/mg de proteína o más y contiene endotoxina, ácido nucleico y proteasa en cantidades de no más de los límites de detección respectivos. Tal condroitinasa ABC puede obtenerse, por ejemplo, mediante el método tal como se describe en el documento JP 6-153947-A.

60 Además, en la presente invención, "1 unidad" de condroitinasa ABC se refiere a la cantidad de enzima que libera 1 micromol ( $\mu\text{M}$ ) de disacárido insaturado por minuto cuando se deja reaccionar enzima con sulfato de condroitina C como sustrato a pH 8,0 y 37°C.

65 Cuando se usa condroitinasa ABC que tiene una actividad enzimática de 270 unidades/mg de proteína o más, el proteoglicano en el sitio seleccionado como diana puede degradarse apropiadamente sin afectar a tejidos alrededor del sitio seleccionado como diana administrándola a un organismo vivo como preparación farmacéutica inyectable. Por tanto, la enzima puede ser un medicamento seguro y eficaz.

(2) Enfermedad objetivo

5 La enfermedad objetivo del agente terapéutico de la presente invención no está limitada siempre que sea hernia discal, y tal enfermedad objetivo es preferiblemente una hernia discal lumbar, y de manera especialmente preferible, entre estas, una hernia discal lumbar que se produce en el disco entre la cuarta vértebra lumbar y la quinta vértebra lumbar, o en el disco entre la quinta vértebra lumbar y la primera sacra.

10 (3) Sitio/método/frecuencia de administración

La condroitinasa ABC puede inyectarse en el núcleo pulposo presente dentro del disco en el que se produce la hernia discal. La frecuencia de la inyección es una vez.

15 Las cadenas de sulfato de condroitina y las cadenas de ácido hialurónico en el núcleo pulposo del disco se degradan mediante esta inyección de modo que se atenúa la alta capacidad de retención de agua de proteoglicanos dando como resultado la reducción de la presión intradiscal, conduciendo a una presión reducida sobre raíces de nervios espinales debida a la hernia discal, mejorando así la hernia discal.

20 (4) Dosis

La condroitinasa ABC se administra a una dosis de 1-3 unidades por disco. Preferiblemente se administran 1-2,5 unidades o 1,25-3 unidades, de manera especialmente preferible se administran 1,25-2,5 unidades, y lo más preferiblemente se administran 1,25 unidades o 2,5 unidades.

25 En particular, a una dosis de 1,25-5 unidades, el efecto terapéutico es casi el mismo (véase la figura 1), y la tasa de incidencia (%) de efectos secundarios adversos es mínima a una dosis de 2,5 unidades (véase la figura 2). Por tanto, se requieren 1-3 unidades con el fin de garantizar el efecto terapéutico eficaz y la seguridad en tan sólo una única dosis.

30 (5) Forma de dosificación, etc.

La condroitinasa ABC puede proporcionarse en una forma de dosificación que se emplea habitualmente como inyección. Por ejemplo, la forma de dosificación puede ser cualquiera de una forma de disolución, una forma congelada y una forma liofilizada. Puede prepararse una inyección llenando un recipiente apropiado con la misma tal como una ampolla, un vial o una jeringa para inyección, y sellando el recipiente.

35 Además, cuando se llena o se sella la condroitinasa ABC en un recipiente adecuado, tal como una ampolla, un vial o una jeringa para inyección, con el fin de impedir una reacción química de la condroitinasa ABC, especialmente oxidación, el recipiente puede llenarse o sellarse junto con un gas inerte tal como gas nitrógeno o gas raro.

40 El material del recipiente tal como una ampolla, un vial o una jeringa para inyección, que puede llenarse y sellarse con condroitinasa ABC, no está particularmente limitado siempre que no afecte a la condroitinasa ABC y sea un material farmacéuticamente aceptable.

45 Es posible usar métodos conocidos para la formulación de la condroitinasa ABC. En la formulación, pueden usarse otros principios farmacéuticamente activos y componentes habitualmente usados en medicamentos, tales como excipientes, estabilizadores, aglutinantes, emulsionantes, agentes osmóticos, tampones, reguladores del pH, agentes isotónicos, conservantes, agentes calmantes, colorantes convencionales o similares, siempre que no afecten adversamente a la actividad de la propia condroitinasa ABC y no afecten adversamente a la acción de la condroitinasa ABC.

**Ejemplos**

55 A continuación en el presente documento, se describirá la presente invención con más detalle a modo de ejemplos, pero éstos son ilustrativos de la presente invención y no se pretende que el alcance de la presente invención se limite a los mismos.

Ejemplo 1

60 Producción de agente terapéutico de la presente invención

(1) Producción de condroitinasa ABC

65 Se produjo condroitinasa ABC cultivando *Proteus vulgaris* y purificando el sobrenadante de cultivo según el método descrito en el documento JP 6-153947-A.

Las actividades enzimáticas respectivas de la condroitinasa ABC producida estaban todas en el intervalo de 270-480 unidades/mg de proteína. Además, los contenidos de endotoxina, ácido nucleico y proteasa en la condroitinasa ABC eran todos iguales o inferiores al límite de detección.

5 (2) Formulación

Las tres clases siguientes de formulaciones inyectables liofilizadas (A) a (C) que contienen la condroitinasa ABC que tienen cada una las siguientes unidades y los siguientes componentes de formulación.

10 (A) La condroitinasa ABC de 5 unidades

(B) La condroitinasa ABC de 10 unidades

(C) La condroitinasa ABC de 20 unidades

15 Componentes de formulación:

Hidrogenofosfato de sodio hidratado 1,125 mg

20 Dihidrogenofosfato de sodio 0,3 mg

Sacarosa 5 mg

Polietilenglicol 3350 10 mg

25 (Nota: Polietilenglicol 3350 corresponde a macrogol 4000 indicado en la farmacopea japonesa).

Además, se usó como placebo una formulación inyectable liofilizada que sólo contenía los componentes de formulación (que no contenía condroitinasa ABC) preparada de la misma manera.

30 (3) Disolución antes de la administración

Se añadió una disolución lista para usar (4 ml) que tenía la siguiente composición a cada formulación de (A) a (C) (incluyendo un placebo) descrita anteriormente antes de su uso, de modo que se disolvieron las formulaciones para preparar una formulación de 1,25 unidades/ml para administración, una formulación de 2,5 unidades/ml para administración y una formulación de 5 unidades/ml para administración, respectivamente. Se preparó una formulación de placebo de la misma manera.

Disolución lista para usar:

40 Hidrogenofosfato de sodio hidratado 3,375 mg

Dihidrogenofosfato de sodio 0,9 mg

45 Sacarosa 15 mg

Polietilenglicol 3350 (correspondiente a macrogol 4000 indicado en la farmacopea japonesa) 30 mg

Cloruro de sodio 36 mg

50 Agua para inyección 4 ml

Ejemplo 2

55 Estudio en pacientes con hernia discal

1. Sujetos

60 Pacientes japoneses (194 casos en total) con 20-70 años de edad y con la siguiente hernia discal lumbar sirvieron como sujetos:

pacientes con hernia por protrusión o hernia por extrusión subligamentosa (que no protruye en el ligamento longitudinal posterior), en los que se confirmó mediante IRM una hernia discal lumbar que se producía en el disco entre la cuarta vértebra lumbar y la quinta vértebra lumbar o en el disco entre la quinta vértebra lumbar y la primera sacra y los síntomas clínicos eran compatibles con la ubicación de las raíces nerviosas dañadas; y

65

pacientes en el caso en el que se observa una sexta vértebra lumbar y en los que la raíz del quinto nervio lumbar o la raíz del primer nervio sacro está dañada y los síntomas clínicos son compatibles con la ubicación de las raíces nerviosas dañadas.

5 Se dividieron los sujetos anteriores en cada grupo de un grupo de administración de placebo (47 sujetos), un grupo de administración de 1,25 unidades de condroitinasa ABC (49 sujetos), un grupo de administración de 2,5 unidades de condroitinasa ABC (49 sujetos) y un grupo de administración de 5 unidades de condroitinasa ABC (49 sujetos), y se administraron respectivamente formulaciones correspondientes tal como se describieron anteriormente.

## 10 2. Método para la administración del agente terapéutico de la presente invención

De cada formulación (4 ml) para la administración tal como se describió en el ejemplo 1, se usó 1 ml de tal formulación para la administración. Por tanto, la cantidad de la enzima que va a administrarse es de 1,25 unidades/ml en el caso de la formulación para la administración de 1,25 unidades, 2,5 unidades/ml en el caso de la formulación para la administración de 2,5 unidades, y 5 unidades/ml en el caso de la formulación para la administración de 5 unidades (formulación de referencia).

Usando estas formulaciones, se inyectó una única dosis de 1 ml de cada una en el núcleo pulposo del disco tal como se muestra a continuación.

## 20 3. Evaluación

### (1) Evaluación farmacológica

#### 25 (a) Evaluación del dolor por el sujeto (escala visual analógica: VAS)

En cada punto de tiempo de 1 semana, 2 semanas, 3 semanas, 4 semanas, 5 semanas, 6 semanas, 13 semanas, 26 semanas, 39 semanas y 52 semanas tras la administración de la formulación, se realizó una medición sobre “el peor dolor de piernas durante el periodo de las últimas 24 horas (evaluación mediante VAS)” que se evaluó por el propio sujeto (una medición del valor de VAS).

Se realizó la evaluación mediante VAS por el sujeto antes de la hora de acostarse. En una línea recta de 100 mm de “una hoja de evaluación del dolor” en la que “sin dolor” se describe en el extremo izquierdo de la línea recta y “el mayor dolor experimentado en el pasado” se describe en el extremo derecho, el propio sujeto marcó el grado de dolor con un punto.

Se midió la distancia (mm) desde el extremo izquierdo de la misma línea recta hasta el punto en el que el sujeto había marcado para evaluar el grado de dolor. Se analizaron los resultados de esta evaluación mediante una prueba de comparación múltiple de tipo Dunnett usando un grupo de placebo como control.

Además, se evaluó la tasa de cambio en el dolor (tasa de cambio en la VAS). Se determinó la tasa de cambio en la VAS obteniendo una variación de VAS restando el valor de VAS a las 13 semanas tras la administración de la formulación del valor de VAS antes de la administración de la formulación, y dividiendo la variación de VAS entre el valor de VAS antes de la administración de la formulación. Se realizó un análisis de covarianza ( $p < 0,05$ ) para esta variación de VAS, usando un grupo de placebo como control.

#### (b) Examen neurológico

Se realizó una prueba de elevación de la pierna estirada (prueba de SLR) en la semana 13 tras la administración de la formulación, con el fin de examinar la estimulación nerviosa provocada por la hernia discal.

La prueba de SLR es uno de los exámenes neurológicos de hernia discal lumbar, y cuando se estiraron las extremidades inferiores, se determinó que el caso en el que el ángulo de elevación de la pierna estirada es de 70 grados o menos era “positivo” y se determinó que el caso en el que el ángulo de elevación de la pierna estirada supera 70 grados era “negativo”. Antes de la administración de la formulación en este estudio, todos los sujetos eran positivos.

Se sumó la frecuencia de los casos positivos y negativos en la prueba de SLR para cada grupo y se examinó la razón de casos negativos en la prueba de SLR mediante una comparación múltiple de tipo Steel usando un grupo de placebo como control.

Además, se llevó a cabo una evaluación de eficacia farmacológica en 193 casos de los sujetos objetivo.

#### (2) Evaluación de la seguridad

Se llevó a cabo una evaluación de la seguridad en 194 casos de los sujetos objetivo.

Se determinó el número de apariciones y la tasa de incidencia de efectos secundarios adversos. Se llevó a cabo la evaluación hasta 13 semanas tras la administración de la formulación. Sin embargo, entre los efectos secundarios adversos, se evaluaron los siguientes puntos de (a) y (b) hasta 52 semanas tras la administración;

en comparación con el valor antes de la administración de la formulación, (a) los casos en los que la tasa de reducción de la altura de disco fue equivalente o superior al 30% tras tal administración, y (b) los casos en los que el ángulo posterior vertebral del cuerpo vertebral fue equivalente o superior a 5 grados.

Además, la evaluación de la seguridad del punto (b), de manera que el ángulo posterior vertebral del cuerpo vertebral debe ser equivalente o superior a 5 grados, es un índice relacionado con la inestabilidad del disco, que se establece por The U.S. Food and Drug Administration (FDA).

Se determinó la tasa de reducción promedio de la altura de disco en un grupo de administración que recibió cada unidad 13 semanas tras la administración de la formulación.

#### 4. Resultado

##### (1) Evaluación farmacológica

##### (a) VAS

La figura 1 muestra la transición del peor dolor de pierna (VAS) tras la administración de la formulación. El eje horizontal de la figura 1 muestra el tiempo (semanas) tras la administración, y el eje vertical muestra el valor (mm) de VAS. La marca de diamante (◆) en el gráfico muestra los resultados del grupo de placebo, la marca de círculo negro (●) muestra los resultados de un grupo de administración de 1,25 unidades de condroitinasa ABC, la marca de cuadrado (■) muestra los resultados de un grupo de administración de 2,5 unidades de condroitinasa ABC, y la marca de triángulo negro (▲) muestra los resultados de un grupo de administración de 5 unidades de condroitinasa ABC (formulación de referencia).

Se observó un efecto inhibitor del dolor desde la primera semana en cualquiera de los grupos de administración de las formulaciones. En particular, se observó un efecto inhibitor del dolor significativo ( $p < 0,05$ ) desde la primera semana en el grupo de administración de la formulación de 1,25 unidades de condroitinasa ABC, y el grupo de administración de la formulación de 5 unidades de condroitinasa ABC, en comparación con el grupo de placebo. Además, en las semanas 39 y 52 tras la administración, se mostró un efecto inhibitor del dolor significativo ( $p < 0,01$  o  $p < 0,001$ ) en todos los grupos de administración, en comparación con el grupo de placebo. Los efectos inhibidores del dolor son sustancialmente iguales en el grupo de administración de 1,25 unidades, el grupo de administración de 2,5 unidades y el grupo de administración de 5 unidades, y se mostró que tal efecto inhibitor era eficaz a lo largo de un año (52 semanas). Como resultado, se demostró que una única administración de la formulación mostró un efecto inhibitor del dolor significativo.

Además, la tasa de cambio en la VAS en la semana 13 tras la administración fue del 66% en el grupo de administración de 1,25 unidades de condroitinasa ABC, el 61% en el grupo de administración de 2,5 unidades de condroitinasa ABC y el 69% en el grupo de administración de 5 unidades de condroitinasa ABC, y se confirmó una reducción significativa en la tasa de cambio en la VAS en cualquiera de los grupos de administración de las unidades anteriores, en comparación con la del grupo de administración de placebo (45%).

##### (a) Examen neurológico (prueba de SLR)

La tasa de negativos en el grupo de placebo fue de aproximadamente el 50%, pero las tasas de negativos en los grupos de administración fueron todas del 60% o más. En particular, la tasa de negativos en el grupo de administración de 1,25 unidades de condroitinasa ABC alcanzó el 80% o más.

En cualquiera de los grupos de administración, hubo un aumento en la proporción de respuesta negativa. Particularmente, la proporción de respuesta negativa aumentó significativamente ( $p < 0,01$ ) en el grupo de administración de 1,25 unidades de condroitinasa ABC, en comparación con el grupo de administración de placebo.

##### (2) Evaluación de la seguridad

En la figura 2 se muestra la tasa de incidencia de efectos secundarios adversos. El eje horizontal en la figura 2 muestra cada grupo de administración, y el eje vertical muestra la tasa de incidencia (%) de efectos secundarios adversos. La tasa de incidencia de efectos secundarios adversos en el grupo de administración de 5 unidades de condroitinasa ABC (formulación de referencia) fue del 61,2%, del 44,9% en el grupo de administración de 2,5 unidades de condroitinasa ABC y del 46,9% en el grupo de administración de 1,25 unidades de condroitinasa ABC. A partir de esto, se mostró que el valor mínimo de la tasa de incidencia de efectos secundarios adversos estaba en las inyecciones de 2,5 unidades por disco para el grupo de administración y se aclaró la presencia de

una dosis que podía provocar efectos secundarios adversos mínimos.

Entonces, se estudiaron efectos secundarios adversos tales como inestabilidad del disco en (a) los casos en los que el ángulo posterior vertebral del cuerpo vertebral era equivalente o superior a 5 grados y (b) los casos en los que la tasa de reducción promedio de la altura de disco era igual o superior al 30%. En la tabla 1 a continuación se muestran los resultados.

[Tabla 1]

Grupo de administración	Grupo de placebo N=47	Grupo de 1,25 U N=49	Grupo de 2,5 U N=49	Grupo de 5 U N=49	Grupo de 10 U N=6
Ángulo posterior vertebral del cuerpo vertebral	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (2,0%)	2 (33,3%)
Reducción en la altura de disco	0 (0%)	4 (8,2%)	4 (8,2%)	7 (14,3%)	-

- : Sin datos

10 Como resultado, se observó 1 caso (tasa de incidencia del 2%) en el que el ángulo posterior vertebral del cuerpo vertebral era de 5 grados o más en el grupo de administración de 5 unidades de condroitinasa ABC. Por otro lado, no hubo ningún caso en el que el ángulo posterior vertebral del cuerpo vertebral fuera de 5 grados o más en el grupo de administración de 1,25 unidades de condroitinasa ABC ni en el grupo de administración de 2,5 unidades de condroitinasa ABC. Además, en el grupo de administración de 10 unidades de condroitinasa ABC como ejemplo comparativo, se observaron 2 casos (tasa de incidencia del 33,3%) en los que el ángulo posterior vertebral del cuerpo vertebral era de 5 grados o más, lo que indica que se produjeron efectos secundarios adversos relacionados con la inestabilidad del disco en un alto porcentaje, lo cual no tenía uso práctico.

20 Hubo 7 casos (tasa de incidencia del 14,3%) en los que la tasa de reducción en la altura de disco fue del 30% o más en el grupo de administración de 5 unidades de condroitinasa ABC, 4 casos (tasa de incidencia del 8,2%) en el grupo de administración de 1,25 unidades de condroitinasa ABC y 4 casos (tasa de incidencia del 8,2%) en el grupo de administración de 2,5 unidades de condroitinasa ABC. Se encontró que la aparición de los efectos secundarios adversos disminuía rápidamente.

25 A continuación, en la figura 3 se muestra la tasa de reducción promedio de la altura de disco en los grupos de administración de cada unidad. El eje horizontal en la figura 3 muestra cada grupo de administración y el eje vertical muestra la tasa de reducción (%) de la altura de disco.

30 Como resultado, se encontró que las tasas de reducción promedio de la altura de disco en los grupos de administración de 5 unidades, 2,5 unidades y 1,25 unidades de condroitinasa ABC eran todas inferiores al 30%. Estos grupos de administración mostraron cada uno una gran tasa de reducción de la altura de disco en comparación con el grupo de placebo, y se mostró que se observó un efecto terapéutico. Además, en el grupo de administración de 10 unidades de condroitinasa ABC en el ejemplo comparativo, se encontró que la tasa de reducción era del 30% o más.

35 Además, se observó un aumento en el título de anticuerpos IgG frente a condroitinasa ABC, lo cual es un efecto secundario, en 1 caso en el grupo de administración de 2,5 unidades y en 1 caso en el grupo de administración de 5 unidades. Este aumento en el título de anticuerpos no se observó en el grupo de administración de 1,25 unidades.

40 (Ejemplo comparativo) Evaluación de la seguridad en la administración de 10 unidades

45 Se administró condroitinasa ABC de 10 unidades por disco a pacientes (6 personas) con hernia discal lumbar de la misma manera que anteriormente. Como evaluación de la seguridad, se determinaron (a) la tasa de reducción en la altura de disco en la semana 12 tras la administración y (b) el caso con el número y la tasa de incidencia de ángulo posterior vertebral del cuerpo vertebral que era equivalente o superior a 5 grados.

50 En la figura 3 se muestra la tasa de reducción en la altura de disco en la semana 12 tras la administración. Como resultado, la tasa de reducción promedio en la altura de disco fue del 45,4%, lo cual era significativamente superior al valor (30%) que podía producir un problema de seguridad.

55 Además, en la tabla 1 también se mostraron los resultados del ángulo posterior vertebral del cuerpo vertebral que era equivalente o superior a 5 grados. Tal como se muestra en la tabla 1, el 33,3% de los pacientes que mostraron el ángulo posterior vertebral del cuerpo vertebral que era equivalente o superior a 5 grados se observaron en el grupo de administración de 10 unidades de condroitinasa ABC. A partir de estos resultados, se considera que el grupo de administración de 10 unidades tiene un alto riesgo relacionado con la inestabilidad de la columna vertebral.

Se midió mediante IRM el volumen del núcleo pulposo en seres humanos y en perros con el fin de estimar una dosis de condroitinasa ABC eficaz para seres humanos a partir de la dosis de condroitinasa ABC en perros tal como se

describe en el documento no de patente 4.

(Ejemplo de referencia) Comparación del volumen de núcleo pulposo usando IRM

5 Se obtuvieron imágenes ponderadas en T2 mediante obtención de imágenes por IRM del disco entre la cuarta  
 vértebra lumbar y la quinta vértebra lumbar en 9 voluntarios sanos (6 hombres, 3 mujeres) y muestras resecadas de  
 perros (6 animales), y se midieron el eje menor, el eje mayor y el área de imagen coronal del núcleo pulposo, y el eje  
 menor de la imagen sagital del núcleo pulposo. Se calculó el volumen del núcleo pulposo (área de sección  
 10 transversal coronal x eje menor de sección transversal sagital). En la tabla 2 a continuación se muestran los  
 resultados.

[Tabla 2]

Especie animal	Volumen de núcleo pulposo (mm <sup>3</sup> ) (Valor calculado a partir de imagen de IRM)	Razón de volumen promedio de núcleo pulposo en imagen de IRM
Humano	7852,2±2041,2	Humano/perro =70,2
Perro (Beagle)	111,8±70,3	

Valor = Promedio ± desviación estándar

5. Resumen

15 La tasa de incidencia de mostrar el ángulo posterior vertebral del cuerpo vertebral que es equivalente o superior a  
 5 grados fue del 33,3% cuando se administraron 10 unidades de condroitinasa ABC, mientras que se encontró que  
 tal tasa de incidencia podía reducirse significativamente hasta el 2% cuando se administró la mitad de la dosis, es  
 decir 5 unidades.

20 Además, aunque la tasa de reducción promedio de la altura de disco también alcanzó incluso el 45,4% cuando se  
 administraron 10 unidades de condroitinasa ABC, la tasa de reducción de la altura de disco fue del 17,6% en el  
 grupo de administración de 5 unidades de condroitinasa ABC. Por tanto, se mostró que la reducción en la altura de  
 disco podía suprimirse notablemente disminuyendo la dosis desde 10 unidades hasta la mitad de la dosis, es decir  
 5 unidades.

25 El documento no de patente 3 describe que cuando se administraron 0,5 unidades de condroitinasa ABC por disco  
 en el disco humano, no se produjo una mejora rápida en el dolor de piernas, lo que indica que 0,5 unidades era una  
 dosis inferior, pero no se realizaron estudios detallados sobre los efectos secundarios adversos y se desconocía la  
 30 dosis clínicamente eficaz.

Administrando condroitinasa ABC en un intervalo de 1-3 unidades por disco, es posible reducir los efectos  
 secundarios adversos al tiempo que se muestra una mejora significativa en el dolor en tan sólo una única dosis.  
 Además, se encontró que seleccionando una administración de condroitinasa ABC en el intervalo de 1-3 unidades,  
 35 pudieron reducirse los efectos secundarios adversos al tiempo que se mostraba un efecto similar en la mejora del  
 dolor que a una dosis superior de 5 unidades.

Por otro lado, el documento no de patente 4 describe que incluso cuando se administraron 0,5-1 unidades de  
 condroitinasa ABC por disco en un disco de perro, no se produjo una reducción rápida del núcleo pulposo, lo que  
 40 indica que la dosis era demasiado pequeña. Además, el documento no de patente 6 describe que se necesita un  
 ajuste de la escala en el análisis de los resultados experimentales en modelos animales dado que el comportamiento  
 del disco depende del tamaño del disco. Entonces, a partir del ejemplo de referencia anterior, se confirmó que el  
 volumen del núcleo pulposo humano era 70 veces mayor que el del núcleo pulposo de perro. En vista de las  
 45 descripciones de los documentos no de patente 4 y 6 y dado que el volumen del núcleo pulposo humano era mucho  
 mayor que el volumen del núcleo pulposo de perro, incluso cuando se administraron 35-70 unidades, lo cual es 70  
 veces 0,5-1 unidades, de condroitinasa ABC, se estimó que tal dosis no era suficiente.

De esta manera, la dosis para seres humanos estimada a partir de los resultados experimentales en perros tal como  
 se describen en el documento no de patente 4 es bastante diferente de la dosis que se encontró en la presente  
 50 invención, y era extremadamente difícil de predecir una dosis eficaz para seres humanos.

Por tanto, se encontró que podían reducirse los efectos secundarios adversos mediante la administración de 1-  
 3 unidades de condroitinasa ABC por disco en un disco humano y podía tratarse la hernia discal en tan sólo una  
 55 única dosis.

**Aplicabilidad industrial**

La presente invención proporciona condroitinasa ABC para su uso en un método de tratamiento de hernia discal,  
 que tiene extremadamente pocos efectos secundarios adversos, puede lograr un efecto de mejora del dolor

prolongado cuando se administra en tan sólo una única dosis y puede mostrar un alto efecto terapéutico y una alta seguridad en aplicaciones clínicas.

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Condroitinasa ABC para su uso en un método de tratamiento de hernia discal en un humano, comprendiendo el método administrar la condroitinasa ABC en una única dosis en un disco afectado en una cantidad de 1-3 unidades por disco, siendo una unidad de condroitinasa ABC la cantidad que libera 1  $\mu\text{mol}$  de disacárido insaturado por minuto cuando se deja reaccionar con sulfato de condroitina C como sustrato a un pH de 8,0 y una temperatura de 37°C.
- 10 2. Condroitinasa ABC para su uso según la reivindicación 1, en la que el método comprende administrar la condroitinasa ABC en una única dosis en una cantidad de 1,25 unidades por disco.
3. Condroitinasa ABC para su uso según la reivindicación 1, en la que el método comprende administrar la condroitinasa ABC en una única dosis en una cantidad de 2,5 unidades por disco.
- 15 4. Condroitinasa ABC para su uso según cualquier reivindicación anterior, en la que el método comprende administrar la condroitinasa ABC mediante inyección.
- 20 5. Condroitinasa ABC para su uso según cualquier reivindicación anterior, en la que la hernia discal es una hernia discal lumbar.
6. Condroitinasa ABC para su uso según cualquier reivindicación anterior, en la que la condroitinasa ABC deriva de *Proteus vulgaris*.

FIG. 1

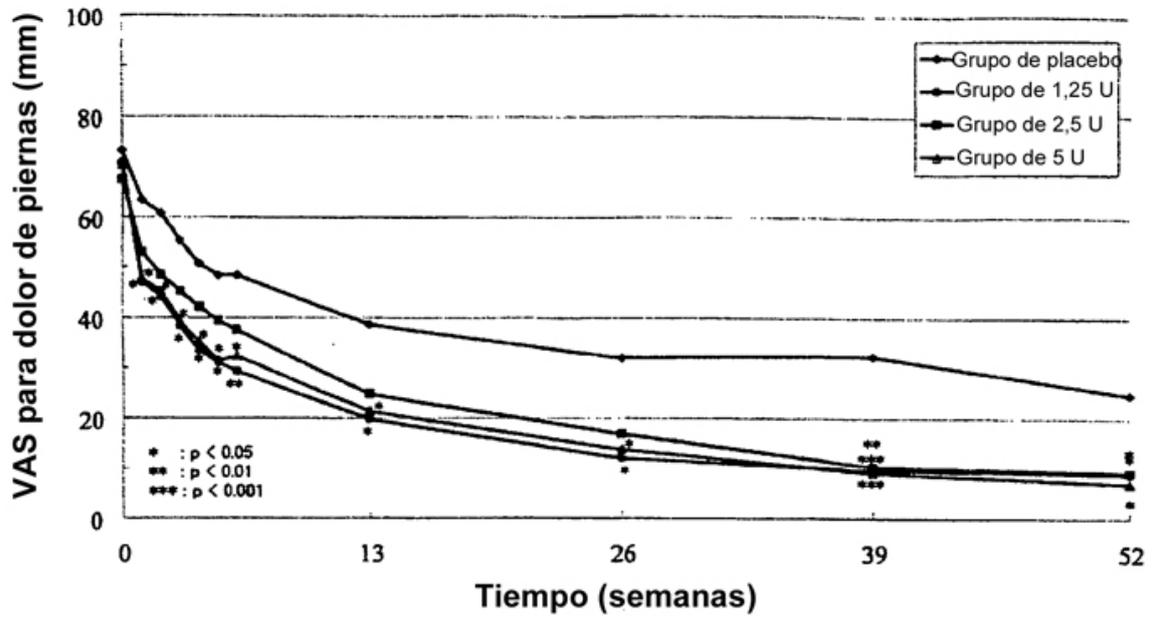


FIG. 2

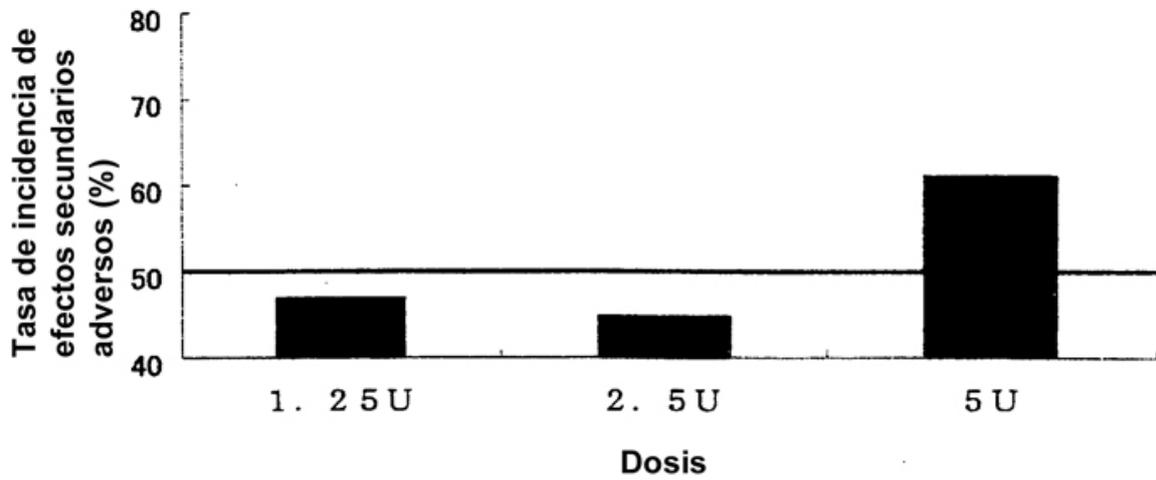


FIG. 3

