

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 542 629**

51 Int. Cl.:

A61K 31/191	(2006.01)	A61P 27/02	(2006.01)
A61K 9/00	(2006.01)	A61P 29/00	(2006.01)
A61P 17/02	(2006.01)	A61P 37/08	(2006.01)
A61P 19/00	(2006.01)	A61K 8/365	(2006.01)
A61P 1/00	(2006.01)	A61K 45/06	(2006.01)
A61P 9/00	(2006.01)		
A61P 11/00	(2006.01)		
A61P 5/14	(2006.01)		
A61P 5/44	(2006.01)		
A61P 25/00	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.11.2010 E 10809043 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.04.2015 EP 2504004**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas y aplicaciones terapéuticas de un derivado de hidrocortisona designado como Deina**

30 Prioridad:
27.11.2009 IT PI20090151

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.08.2015

73 Titular/es:
**BARCO, GIOVANNI (100.0%)
Via Angelo Battelli, 39
56128 Pisa, IT**

72 Inventor/es:
BARCO, GIOVANNI

74 Agente/Representante:
LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 542 629 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 y aplicaciones terapéuticas de un derivado de hidrocortisona designado como Deina

5 La presente invención se refiere a nuevas aplicaciones terapéuticas de un derivado de hidrocortisona, específicamente Deina. Más en particular, la invención se refiere al uso de este derivado en la regeneración de tejidos atróficos. La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden Deina como ingrediente activo y sus aplicaciones terapéuticas.

10 El tejido atrófico es particularmente un tejido mucoso, un tejido cartilaginoso, un tejido conjuntivo osteoarticular, un tejido vascular o nervioso. La presente invención se refiere a una composición que es eficaz en la regeneración de todos estos tejidos atróficos y/o distróficos y/o inflamados y/o reactivamente calcificados, en particular tejidos en los que existe una reducción en la masa provocada por una reducción en el número de células o en su tamaño y/o la pérdida de vascularización local-regional y/o inervación local-regional, preferentemente con un componente inflamatorio con o sin necrosis y con o sin calcificación reactiva. El alcance de la invención es como se define en las reivindicaciones adjuntas.

15 La composición de acuerdo con la invención es adecuada para la preparación en varias formas físicas y formulaciones específicamente adaptadas para su uso destinado, tales como composiciones cosméticas, medios de cultivo celular, composiciones farmacéuticas y dispositivos médicos para su uso humano o veterinario.

20 Como se ilustrará en detalle en la sección de ejemplos, la composición de acuerdo con la invención es eficaz en la regeneración y el restablecimiento eutrófico de tejidos atróficos, tales como tejidos mucosos, tejidos cartilaginosos, tejidos conjuntivos osteoarticulares, tejidos vasculares y tejidos nerviosos, tanto *in vitro* como *in vivo*, creando condiciones microambientales adecuadas para inducir la regeneración de tejido eutrófico.

Estado de la técnica

30 Las composiciones derivadas de hidrocortisona se han conocido durante mucho tiempo (se hace referencia, por ejemplo, a los documentos US 2 951 074 A y EP 1 619 200 A).

El uso de composiciones derivadas de hidrocortisona en el tratamiento de alopecia también es conocido (se hace referencia, por ejemplo, a los documentos WO2006051287A1 y WO2009044251A2).

35 El uso de derivados de hidrocortisona en el tratamiento de atrofas tisulares y sus complicaciones, sin embargo, no es conocido.

40 El término atrofia incluye las lesiones que se producen cuando una fuerza de compresión aplicada durante un tiempo suficientemente largo es mayor que la tensión arterial en el área arteriolar-capilar, suficiente para provocar isquemia. La atrofia puede ser fisiológica o patológica, aguda o crónica, con las complicaciones de inflamación y/o calcificación reactiva, y se puede producir por varios motivos, siendo los principales:

- uso reducido (atrofia por desuso) de, por ejemplo, un miembro o articulación (inmovilidad o lesiones cartilaginosas),
- 45 - pérdida de inervación, como resultado de una lesión en un nervio periférico,
- flujo sanguíneo insuficiente (isquemia aguda o crónica),
- envejecimiento,
- atrofas debidas a un descenso de estrógenos (disfunciones hormonales o menopausia) en el campo de la ginecología.

50 A nivel celular, la atrofia se caracteriza por una reducción en las dimensiones mínimas compatibles con la supervivencia de todos los orgánulos celulares.

55 La presente invención se refiere al uso terapéutico de la composición derivada de hidrocortisona cuyo nombre IUPAC es *ácido 3-[3,5-dihidroxi-3-(2-hidroxi-acetil)-3 α ,6-dimetil-7-oxo-dodecahidro-ciclo-penta[alfa]naftalen-6-il]-propiónico* que tiene un peso molecular de 382 Dalton (C₂₀H₃₀O₇), designado como Deina®, en el tratamiento de atrofas del tejido conjuntivo y/o mucoso sencillas o complicadas seleccionadas de atrofas de tejido mucoso, tejido cartilaginoso, tejido vascular, tejido nervioso y tejido conjuntivo osteoarticular.

60 Deina® induce el restablecimiento de una afección eutrófica en tejidos mucosos y/o conjuntivos afectados por afecciones atróficas sencillas o complicadas moderadas o graves que dan lugar a una regeneración tisular local-regional seguido de la recuperación de todas las funciones específicas de tejido dañadas.

65 De acuerdo con la presente invención, este objetivo se logra a través de la solución reivindicada específicamente en las siguientes reivindicaciones. Con respecto a la invención, las reivindicaciones forman una parte integral de la

enseñanza técnica proporcionada.

Sumario de la invención

5 El objetivo de la presente invención es un nuevo uso de la composición de hidrocortisona cuyo nombre IUPAC es *ácido 3-[3,5-dihidroxi-3-(2-hidroxi-acetil)-3 α ,6-dimetil-7-oxo-dodecahidro-ciclo-penta[alfa]naftalen-6-il]-propiónico* que tiene un peso molecular de 382 Dalton (C₂₀H₃₀O₇), designado como Deina®. El propósito de este nuevo uso es la regeneración de tejidos atróficos, *in vitro e in vivo*, en contextos humanos y veterinarios, en particular de tejido mucoso, cartilaginoso y conjuntivo osteoarticular atrófico.

10 De acuerdo con la presente invención, este objetivo se logra a través de la solución reivindicada específicamente en las siguientes reivindicaciones. Las reivindicaciones forman una parte integral de la enseñanza técnica proporcionada en el presente documento en relación con la invención.

15 Los inventores han descubierto que las moléculas de acuerdo con la invención son eficaces en la inducción de la reparación y regeneración de afecciones atróficas tales como tejido mucoso y tejidos conjuntivos atróficos, tanto *in vitro* como *in vivo*, a través del restablecimiento de afecciones fisiológicas, bioquímicas y microambientales óptimas para estimular la vitalidad y mejorar el trofismo en los tejidos comprometidos, incluyendo en el transcurso de atrofia complicada por inflamación patológica y/o calcificación. Más en particular, los inventores han descubierto que el uso del compuesto que tiene la fórmula química reivindicada anteriormente es eficaz en el tratamiento infralesional y perilesional reparativo/regenerativo de tejido mucoso, conjuntivo y preferentemente cartilaginoso.

20 La invención se basa en la observación de un estímulo antiatrófico particular ejercido por el compuesto Deina® derivado de hidrocortisona sobre el tejido mucoso (toda la mucosa y/o mucosa gastrointestinal y/o mucosa bronquial) y/o conjuntivo. Esta actividad se induce a través de la interacción con receptores local-regionales para las sustancias que pueden inducir la recuperación del trofismo de tejido atrófico [1, 2].

25 La actividad del compuesto Deina® descrito en la invención se puede aplicar de forma útil tanto en campos cosméticos como médicos para restablecer condiciones atróficas a condiciones microambientales y eutróficas celulares con la recuperación de las funciones tisulares fisiológicas normales.

30 En el campo de la cosmética, estas sustancias se pueden usar en mamíferos para el tratamiento anti-atrótico de arrugas, para la recuperación de la pigmentación original de apéndices cutáneos (cabello), incluyendo en seres humanos, y para estimular el crecimiento de anejos cutáneos cuando es dependiente de la patología atrótica; para el tratamiento anti-atrótico de la piel y tejidos subcutáneos ya sea sencillo o complicado por afecciones inflamatorias (cremas, geles, espumas, lociones o parches); para el tratamiento anti-atrótico de la mucosa gastrointestinal, ya sea sencillo o complicado por afecciones inflamatorias; para el tratamiento anti-atrótico de enfermedades del aparato respiratorio, ya sean sencillas o complicadas por afecciones inflamatorias; para el tratamiento anti-atrótico de hemopatías, ya sean sencillas o complicadas por afecciones inflamatorias; para el tratamiento anti-atrótico de afecciones alérgicas en dermatología cuando se complica por afecciones inflamatorias; para el tratamiento anti-atrótico de enfermedades miocardiopáticas y enfermedades vasculares periféricas, ya sean sencillas o complicadas por afecciones inflamatorias y afecciones patológicas calcificadas; para el tratamiento de anti-atrótico de afecciones musculoesqueléticas dolorosas, y afecciones musculares, ya sean sencillas o complicadas por afecciones inflamatorias y afecciones patológicas calcificadas (mialgias en general, cefaleas) ; para el tratamiento anti-atrótico de distrofia tisular dependiente de la síntesis de colágeno con efectos adversos, ya sea sencilla o complicada por afecciones inflamatorias y afecciones patológicas calcificadas (enfermedades dermatológicas, enfermedades oftálmicas en general, enfermedades del oído, nariz y garganta, enfermedades del cartilago en general y de articulaciones en particular); para el tratamiento anti-atrótico de afecciones dolorosas en general, cuando se complica por afecciones inflamatorias y afecciones patológicas calcificadas.

35 En el campo médico, los compuestos derivados de hidrocortisona se pueden usar de forma sistémica (por vía parenteral y/o por vía percutánea y/o como infusiones y/o por vía oral y/o por vía rectal) en afecciones que tienen un componente atrótico de tipo inflamatorio-isquémico-degenerativo y/o calcificante:

- 55 - para el tratamiento de dolor en general;
- para el tratamiento de condropatías y artropatías, enfermedades de los tendones, tejidos conjuntivos y enfermedades reumáticas en general, ya sea agudas o crónicas, degenerativas o no, siempre complicadas por microisquemia y atrofia perilesional;
- para el tratamiento de conjuntivopatía de naturaleza atrótica;
- 60 - para el tratamiento de afecciones musculares y enfermedades musculoesqueléticas en general, ya sean degenerativas o no, dependientes de microisquemia;
- para el tratamiento de enfermedades de los tejidos blandos que tienen un componente etiopatogénico isquémico-atrótico;
- para el tratamiento de enfermedades dermatológicas, de naturaleza atrótica-distrófica;
- 65 - para el tratamiento de alergia, con progresión atrótica;

- para el tratamiento de enfermedades atróficas, inflamatorias o degenerativas oftálmicas agudas o crónicas;
- para el tratamiento regenerativo de cuero cabelludo y tejido cutáneo atrófico en pacientes que han padecido daño en estos tejidos, o para el tratamiento de alopecia efluvio o defluvio;
- para el tratamiento de afecciones neurodegenerativas atróficas;
- 5 - para el tratamiento de cefaleas y migrañas de naturaleza isquémica-atrótica;
- para el tratamiento psicoestimulante, ionotrópico y neuroléptico en el transcurso de enfermedades del sistema nervioso central de naturaleza isquémica-atrótica;
- para el tratamiento de afecciones neoplásicas-isquémicas dolorosas, incluyendo cuando se complican por metástasis;
- 10 - para el tratamiento de afecciones de atrofia suprarrenal con insuficiencia cortico-suprarrenal, con o sin pérdida de estimulación endocrina;
- para el tratamiento de afecciones de choque de naturaleza atrófica-isquémica;
- para el tratamiento de enfermedades vasculares centrales y/o periféricas que tienen una etiología micro- y/o macro-isquémica-atrótica;
- 15 - para el tratamiento de afecciones hematológicas, cardiovasculares y respiratorias naturaleza autoinmunitaria, con una progresión atrótica;
- para el tratamiento de enfermedades gastrointestinales con una progresión atrótica;
- para el tratamiento de afecciones edematosas con progresión atrótica;
- 20 - para el tratamiento de atrofia o distrofias del cuerpo cavernoso, ya sean sencillas o complicadas por calcificación reactiva o fibrosis, con o sin inflamación crónica;
- para el tratamiento de enfermedades tiroideas, con progresión atrótica-distrótica.

Entre los usos cosméticos y médico anteriormente enumerados, los que no están incluidos en las reivindicaciones adjuntas están fuera del alcance de la invención.

25

Preferentemente, la invención describe un nuevo uso de la molécula plana:

- Nombre IUPAC: *ácido 3-[3,5-dihidroxi-3-(2-hidroxi-acetil)-3 α ,6-dimetil-7-oxo-dodecahidro-ciclo-penta[alfa]naftalen-6-il]-propiónico* que tiene un peso molecular de 382 Dalton (C₂₀H₃₀O₇), designado como Deina®.

30

La molécula designada como Deina®, que pertenece a la clase de moléculas que tienen actividad biológica derivada de ácido propiónico, que pertenece a la clase de moléculas que tienen actividad biológica derivada de ácido propiónico, tiene capacidades eutrofizantes, antiatróficas antiinflamatorias y anticalcificantes marcadas relativas a tejidos conjuntivos mucosos y capacidad reológica con respecto a tejidos de una derivación ectodérmica en general.

35

Otros ingredientes adecuados para su uso en la composición de acuerdo con la invención son:

- una solución de anestésicos de amina-éster y amina-amida, preferentemente lidocaína al 2 %;
- 40 - solución salina fisiológica;
- agua para preparaciones inyectables.

40

De acuerdo con las aplicaciones y usos destinados, las composiciones de acuerdo con la invención se pueden proporcionar como composiciones farmacéuticas (en diferentes formulaciones específicas de tejido), dispositivos médicos, composiciones cosméticas o como medios de cultivo celular para su uso *in vitro*.

45

Como se describirá con mayor detalle, la composición de acuerdo con la invención se ha sometido a prueba tanto *in vitro* como *in vivo*. Los resultados obtenidos confirman su eficacia en la reparación, regeneración y retrofijación de tejidos atróficos, incluyendo tejidos inflamados, isquémicos y/o necróticos tales como la piel, mucosa, tejidos subcutáneos y tejido conjuntivo en general. Los resultados histológicos obtenidos *in vitro* son particularmente significativos. La reparación y retrofijación de tejidos producidas por las soluciones de acuerdo con la invención son morfológicamente comparables con la afección eutrótica de tejidos intactos *in vivo*, con características histofuncionales óptimas. Con medios de cultivo *in vitro* normales, los tejidos de biopsias cutáneas, con frecuencia, no sobreviven un mes [3].

50

55

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona una solución válida y eficaz para el tratamiento de tejidos atróficos como se define en las reivindicaciones adjuntas, incluyendo tejidos inflamados, isquémicos y/o necróticos, que favorecen la apropiada síntesis, metabolismo y catabolismo de colágeno y acelerando la reparación tisular.

60

En particular, Deina® proporciona una solución válida y eficaz para mejorar la vitalidad y el trofismo de tejidos mucosos y conjuntivo, en general, cuando están complicados por atrofia, inflamación postisquémica y/o necrosis, a través de la creación de condiciones que favorecen la reparación, regeneración y diferenciación celular.

La invención se basa en la sorprendente observación de un estímulo proliferativo particular ejercido por los ingredientes activos descritos anteriormente sobre tejidos mucosos, cartilagosos y conjuntivos osteoarticulares, así como en otros tejidos que, sin embargo, no entran dentro del alcance de la invención.

Estos ingredientes activos tienen una doble acción que es antimicrobiana, como resultado de su pH ácido, y una de regulación del metabolismo y catabolismo de colágeno, fomentando eutrofismo de tejido cutáneo, mucoso y conjuntivo y la apropiada regeneración nerviosa y vascular local-regional, junto con la proliferación celular equilibrada, y finalmente una acción quelante hacia sales de calcio que fomenta la disolución de lesiones tisulares endovasculares, perivasculares y calcificantes en general.

Las composiciones usadas para las aplicaciones de acuerdo con la presente invención se han preparado usando la molécula plana de peso molecular 382 Dalton (C₂₀H₃₀O₇), cuyo nombre IUPAC es *ácido 3-[3,5-dihidroxi-3-(2-hidroxi-acetil)-3 α ,6-dimetil-7-oxo-dodecahidro-ciclo-penta[alfa]naftalen-6-il]propiónico*, designado como Deina®, como ingrediente activo y al menos uno de aminoácidos, péptidos, vitaminas, vitamina factores, sales, anestésicos, mucopolisacáridos, azúcares, sus derivados alcoholes y sus mezclas, soluciones para cultivo celular y aceites esenciales como sustancias auxiliares.

Deina® se usa en cantidades de entre 0,01 mg/ml y 100 mg/ml, preferentemente entre 0,1 mg/ml y 20 mg/ml, aún más preferentemente entre 0,5 mg/ml y 10 mg/ml para composiciones sustancialmente sólidas y composiciones sustancialmente líquidas.

Lo siguiente es una descripción detallada de los usos médicos y cosméticos de Deina®. Los usos que no se incluyen en las reivindicaciones adjuntas están fuera del alcance de la invención.

Las enfermedades del tejido cutáneo y subcutáneo e naturaleza atrófica o distrófica se pueden tratar a través de la aplicación de Deina®. Las enfermedades dermatológicas que se pueden tratar con las composiciones anteriores se indican puramente a modo de ejemplo no limitante: pénfigo, síndrome de Stevens Johnson, dermatitis exfoliativa, dermatitis ampollosa herpetiforme, dermatitis seborreica y dermatitis en general, micosis fungoide, psoriasis, acné vulgar, en especial en presencia de complicaciones y lesiones inflamatorias.

Con respecto al uso de Deina® y sustancias auxiliares en el tratamiento de alopecia, uso que se reivindicó parcialmente en la solicitud de patente internacional PCT/IB2008/002562, se especifica a modo de ejemplo no limitante que existen formas de alopecia de naturaleza exclusivamente atrófica-degenerativa no reivindicadas previamente tales como: alopecia inducida por fármacos, quimioterapia, metales pesados, intoxicación y alopecia autoinmunitaria.

Por medio del uso de Deina® y sustancias auxiliares en el tratamiento de degeneración atrófica de tejidos cutáneos y subcutáneos en forma de complicaciones de afecciones alérgicas crónicas se hará mención a modo de ejemplos no limitantes de: afecciones asmáticas, asma bronquial, dermatitis de contacto, dermatitis atrófica, rinitis alérgica, rinitis perenne, reacciones de hipersensibilidad a fármacos y en particular reacciones similares a urticaria y atórgenas.

Con respecto a enfermedades oftálmicas de naturaleza degenerativa-atrófica, se hará mención a modo de ejemplos no limitantes de: procesos inflamatorios específicos e inespecíficos y alérgicos del ojo y su anejos oculares, uveítis, retinitis, calcificación de la esclerótica, conjuntivitis, queratoconjuntivitis, blefaritis, dacriocistitis, blefaroconjuntivitis, episcleritis, escleritis, reacciones postoperatorias, afecciones inflamatorias, incluyendo las asociadas con afecciones dolorosas y de naturaleza no infecciosa que afectan al segmento anterior del ojo, la inflamación de la parte anterior de la úvea - iritis, iridociclitis, escleritis, episcleritis y miositis, cataratas.

Con respecto al tratamiento de enfermedades del tejido mucoso de naturaleza degenerativa-atrófica a través del uso de Deina® se puede hacer mención a modo de ejemplos no limitantes de: enfermedades gastrointestinales, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, colon irritable, flogosis ideopática intestinal aguda y crónica de localización anorrectal y perianal, afecciones dolorosas espásticas del tubo digestivo, enteritis regional, picor anal, colitis, enfermedad colónica funcional, proctitis ulcerosa y los síntomas y complicaciones de hemorroides.

Con respecto al tratamiento de enfermedades atróficas-degenerativas de las vías respiratorias estas incluyen, a modo de ejemplos no limitantes: sarcoidosis, síndrome de Loeffler, beriliosis, neumonía por aspiración, enfisema pulmonar complicado por broncoespasmo, edemas pulmonares, síndrome de Hamman-Rich.

Con respecto al uso de Deina® y sustancias auxiliares en el tratamiento de degeneración atrófica de tejido mucoso en forma de complicaciones de afecciones alérgicas crónicas se puede hacer mención a modo de ejemplos no limitantes de: afecciones asmáticas, asma bronquial, rinitis alérgica, rinitis perenne y reacciones de hipersensibilidad a fármaco.

Las enfermedades del tejido conjuntivo de naturaleza atrófica-degenerativa se pueden tratar por administración

directa. A modo de ejemplos no limitantes se puede hacer referencia a enfermedades, incluyendo las que tienen una etiopatogenia reumática, tales como condropatía y artropatía de los tendones y tejidos conjuntivos incluyendo: sinovitis debida a artrosis, degeneración de artritis reumatoide correlacionada, bursitis aguda y subaguda, epicondilitis, fibromiositis, tenosinovitis, tenosinovitis aguda no específica, enfermedad de Dupuytren, artrosis postraumática, calcificación periarticular, artritis gotosa, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante, chasquido de dedos, quistes de tendón, quistes de Beker, túnel carpiano, tendinitis, peritendonitis, enfermedad de De Quervain y lipomas.

Con respecto a enfermedades degenerativas atróficas de colágeno tratadas con Deina® estas incluyen, a modo de ejemplos no limitantes, lupus eritematoso sistémico y esclerodermia.

De entre las enfermedades de los tejidos blandos de naturaleza atrófica-degenerativa que se pueden tratar por tratamiento con inyección se puede hacer mención a modo de ejemplo no limitante de: neuritis intercostal, calcificación de los tejidos blandos, neuralgia, isquialgia, radiculitis, polineuritis diabética, polineuritis alcohólica, enfermedad arterial restrictiva de los miembros debida a isquemia y/o gangrena, artrosis cervical, distorsión, mialgia, músculos tensos, lumbalgia, ciatalgias, fibrositis, dismenorrea.

Las cefaleas y migrañas de naturaleza isquémica-atrótica tratadas con el nuevo uso que es el objeto de la presente invención para Deina®, comprenden a modo de ejemplos no limitantes cefaleas congestiva accesorias, migrañas típicas, jaquecas vasomotoras.

Con respecto al tratamiento de afecciones neurodegenerativas atróficas se puede hacer mención como ejemplos no limitantes de esclerosis lateral amiotrófica, esclerosis múltiple (tratamiento complementario), síndrome (tratamiento complementario) y enfermedad de Parkinson, miastenia grave, afecciones comatosas y coma, polirradiculoneuropatía inflamatoria crónica desmielinizante, neuropatía motora multifocal.

Con respecto a enfermedades cardiovasculares y hemopatías atróficas-degenerativas las siguientes se incluyen en el tratamiento con Deina® y sustancias auxiliares a modo de ejemplos no restrictivo: anemia hemolítica autoinmunitaria, enfermedad equimótica, trombocitopenia secundaria, eritroblastopenia, anemia eritroide, enfermedad de Biiger, fenómeno y enfermedad de Raynaud, carditis reumática.

Con respecto a enfermedades atróficas-degenerativas del cuerpo cavernoso complicadas por afecciones inflamatorias y/o calcificantes las siguientes se incluyen en el tratamiento con Deina® y sustancias auxiliares a modo de ejemplos no limitantes: calcificación del cuerpo cavernoso, fibrosis del cuerpo cavernoso, priapismo.

Con respecto a afecciones neoplásicas-isquémicas dolorosas complicadas por degeneración atrófica las siguientes se pueden tratar por tratamiento con inyección a modo de ejemplos no limitantes: metástasis óseas, adenocarcinoma de próstata, neoplasias difusas o localizadas primarias o secundarias en general.

Con respecto al tratamiento de alivio del dolor en general, en el que el dolor acompaña la degeneración atrófica de tejido comprometido, se puede hacer mención a modo de ejemplos no limitantes de: espasmos del músculo estriado, en particular los que derivan de estados febriles prolongados durante la infancia, atrofia muscular debida a afecciones poscomatosas o postraumáticas o enfermedades degenerativas del sistema nervioso central o síndromes extrapiramidales o contracción espástica de la musculatura esquelética o miodistrofia o posturas vertebrales correlacionadas para reducir el dolor artrítico y en particular del cuello o enfermedades de disco intervertebral compresible o traumatismo esquelético con degeneración tisular o neoplasias primarias o secundarias.

De las degeneraciones atróficas después de afecciones edematosas que se pueden tratar con Deina®, se puede hacer mención a modo de ejemplos no limitantes de: edema cerebral que tiene varias etiologías, edema de tumor primario, metástasis y edema recidivante, edema debido a accidentes vasculares, edema postquirúrgico, edema traumático y edema pseudotumoral.

Las composiciones a las que se refiere la presente invención se han preparado usando los ingredientes activos especificados a continuación.

Ingredientes activos

1. Derivados de hidrocortisona

La molécula plana de peso molecular de 382 Dalton, cuyo nombre IUPAC es *ácido 3-[3,5-dihidroxi-3-(2-hidroxiacetil)-3 α ,6-dimetil-7-oxo-dodecahidro-ciclo-pentaf[alfa] naftalen-6-yl]-propiónico*, designado como Deina®.

SUSTANCIAS AUXILIARES (no obligatorias)

1. Aminoácidos

Metionina, cistina, N-acetilcisteína, cistina, glicina, leucina, isoleucina, prolina, glutamina, arginina, ácido glutámico, histidina, histidina-HCl-H₂O, lisina, lisina-HCl, fenilalanina, serina, treonina, triptófano, tirosina, tirosina-sal disódica, valina, prolina, hidroxiprolina, solución que contiene todos los aminoácidos no esenciales.

5 **2. Péptidos**

Glutati3n, colágeno, elastina, extracto de levadura, polipéptidos a los que se les atribuyen funciones tr3ficas.

10 **3. Vitaminas**

Ácido retinoico, retinol, ácido asc3rbico, ácido pantot3nico, pantotenato de D-calcio, piridoxina, piridoxina-HCl, ácido fólico, niacinamida, riboflavina, cobalamina, ácido para-aminobenzoico y biotina.

15 **4. Factores de vitaminas**

Inositol, mioinositol, cloruro de colina, ácido pirúvico, piruvato de sodio.

5. Sales

20 Gluconato de calcio, fosfato de calcio, dicarbonato de sodio, cloruro de calcio, cloruro de magnesio, sulfato de magnesio, cloruro de potasio, fosfato de potasio, cloruro de sodio, nitrato de calcio, cloruro de cinc, nitrato de hierro, piruvato de sodio, pantotenato de D-calcio, sal disódica de tirosina.

25 **6. Anestésicos**

Anestésicos de amina-éster y amina-amida usados como se enumeran a continuaci3n.

I. Anestésicos de amina-amida

30 Articaína: 4-metil-3-(2-propilaminopropanoilamino)tiofen-2-carboxilato de metilo;
 Bupivacaína: 1-butyl-N-(2,6-dimetilfenil)piperidin-2-carboxiamida;
 Carticaína: 4-metil-3-(2-propilaminopropanoilamino)tiofen-2-carboxilato de metilo;
 Cincocaína: 2-butoxi-N-[2-(dietilamino)etil]quinolina-4-carboxiamida;
 Hexilcaína: benzoato de 1-(ciclohexilamino)propan-2-ilo;
 35 Etidocaína: N-(2,6-dimetilfenil)-2-(etil(propil)amino)butanamida;
 Levobupivacaína: (S)-1-butyl-N-(2,6-dimetilfenil)piperidin-2-carboxiamida;
 Lidocaína (Lidocaína, Xilocaína): 2 (dietilamino)-N-(2,6-dimetilfenil)acetamida;
 Mepivacaína (carbocaína o polocaína): N-(2,6-dimetilfenil)-1-metil-piperidin-2-carboxiamida;
 Piperocaína (meticaína): benzoato de 3-(2-metil-1-piperidil)propilo;
 40 - Prilocaína: N-(2-metilfenil)-N²propil-alanin-amida;
 - Ropivacaína: (S)-N-(2,6-dimetilfenil)-1-propilpiperidin-2-carboxiamida;
 - Trimecaína: N²,N²-dietil-N-mesitilglicinamida.

45 **II. Anestésicos de amina-éster**

Amilocaína: benzoato de 1-(dimetil aminometil)-1-metilpropilo;
 Benzocaína: 4-aminobenzoato de etilo;
 Cloroprocaína (nesacaína): 4-amino-2-cloro-benzoato de 2-dietilaminoetilo.

50 - Cocaína: (2R,3S)-3-benzoiloxi-8-metil-8-azabicyclo[3,2,1]octan-2-carboxilato de metilo;

Ciclometicaína (topocaína): 4-ciclohexiloxibenzoato de 3-(2-metil-1-piperidil)propilo;
 Dimetocaína (Larocaína): 4-aminobenzoato de (3-dietilamino-2,2-dimetilpropilo);
 55 Mepirilcaína (epirocaína u oracaína): benzoato de (2-metil-2-propilamino-propilo);
 Ortocaína: 3-amino-4-hidroxi-benzoato de metilo;
 Procaína (Novocaína): 4-aminobenzoato de 2-(dietilamino)etilo;
 Propoxicaína: 4-amino-2-propoxibenzoato de 2-dietilaminoetilo;
 Proximetacaína (Proparacaína): 3-amino-4-propoxi-benzoato de 2-dietilaminoetilo;
 60 Risocaína: 4-aminobenzoato de propilo;
 Tetracaína (ametocaína o Pontocaína): 4-(butilamino)benzoato ed 2-(dimetilamino)etilo.

7. Mucopolisacáridos

65 Ácido hialur3nico, sulfatos de condroitina.

8. Azúcares, sus derivados alcohólicos y sus mezclas

5 Glucosa, sacarosa, glucanos, mananos, glucomananos, fucosa, fructosa, sulfatos de heparano, pectina, almidones, sus alcoholes y derivados.

9. Soluciones para cultivo celular

10 RPMI 1640 (este es un medio de base para el cultivo de células de mamíferos), DMEM-LG (DMEM es una modificación del medio esencial mínimo de Eagle (EMEM) que contiene aminoácidos, sales, glucosa, vitaminas y hierro; LG indica que la concentración de glucosa es baja), FBS (suero fetal bovino), F12 (solución para cultivos celulares que contiene una fuente completa de aminoácidos), solución de Hank (solución para cultivos celulares que contienen bicarbonato de sodio).

15 10. Aceites esenciales

Los aceites esenciales adecuados para su uso en una composición de acuerdo con la invención son, por ejemplo, aceites de hipérico, borraja, menta, jengibre, lavanda, caléndula, castaño de indias, pomelo, cedro, pino, mirra, incienso y ámbar.

20 Composiciones

Las composiciones a las que se refiere la presente invención (a continuación en el presente documento denominada Deina®), para uso *in vitro* e *in vivo* se han preparado usando las sustancias en las cantidades indicadas puramente a modo de ejemplo en las tablas 1 a 5.

Tabla 1. Composición Deina® para uso *in vitro*

Sustancia	Concentración
Ingredientes activos	mg/l
Deina®	10 mg
Otros ingredientes activos	mg/l
Glucosa	1 g
RPMI 1640 o DMEM-LG	c.s. para un litro de solución
FCS	50 ml
F12	10 ml
Solución de	20 ml
Solución de MEM - aminoácidos no esenciales	20 ml

Tabla 2. Deina® para uso endovenoso *in vivo*

Sustancia	Concentración
Ingredientes activos	
Deina®	10 mg
Otros ingredientes activos	
La solución salina fisiológica	20 ml

30

Tabla 3. Deina® para uso parenteral *in vivo*

Sustancia	Concentración
Ingredientes activos	
Deina®	10 mg
Otros ingredientes activos	
Solución salina fisiológica	4 ml
Lidocaína 2 mg/l	1 ml

Tabla 4. Deina® gel para uso tópico *in vivo*

Sustancia	Concentración
Ingredientes activos	
Deina®	20 mg
Otros ingredientes activos	
BASE en gel (carbopol o derivados de celulosa)	c.s. por kg de producto

Tabla 5. Deina® crema para uso tópico *in vivo*

Sustancia	Concentración
Ingredientes activos	
Deina®	20 mg
Otros ingredientes activos	
BASE en forma de crema o emulsión (Ac/Ag o Ag/Ac) (tal como: agua, vaselina blanca, alcohol cetosteárico, parafina líquida, ceteth-20, fosfato de sodio, p-cloro-m-cresol, ácido fosfórico)	c.s. por kg de producto

5 Fundamento para la composición

La presente invención se basa en la observación de un estímulo reparador y regenerativo particular que actúa sobre los tejidos mucosos, cartilaginosos, osteoarticulares y conjuntivos por la molécula designada como Deina® sola o en combinación con uno o más ingredientes activos adicionales seleccionados de: aminoácidos, péptidos, vitaminas, factores de vitaminas, sales, anestésicos (amina-éster o amina-amida), mucopolisacáridos, azúcares, o soluciones para cultivos celulares. Otros ingredientes seleccionados en base a la naturaleza de la dosificación y la indicación médica específica en cuestión, tal como, por ejemplo, mucopolisacáridos, antibióticos, anestésicos de amina-amida o aceites esenciales, también pueden estar presentes en las composiciones de acuerdo con la invención.

Las composiciones cosméticas y farmacéuticas y las composiciones del tipo de dispositivo médico a las que se refiere la presente invención también pueden comprender otros elementos auxiliares tales como excipientes y vehículos, de los que su elección y uso entrará dentro del alcance de un experto medio en la técnica sin que esto requiera ninguna etapa actividad inventiva.

Las composiciones de acuerdo con la invención preparadas como medio de cultivo se han sometido a prueba para comprobar su eficacia en preservar la vitalidad de muestras de biopsia atróficas (fuera del alcance de la invención).

Los resultados histológicos *in vitro* obtenidos tanto a corto plazo (7 días) como hasta dos meses de cultivo con la composición descrita en la tabla 1 han confirmado la formación de tejido eutrófico morfológicamente óptimo que persiste en el tiempo en todas las biopsias tratadas.

Todas las muestras de tejido de biopsia cicatricial atrófico sometidas a prueba respondieron positivamente al uso de medios de cultivo de acuerdo con la invención, permaneciendo vitales, reorganizando la estructura tisular tridimensional y depositando colágeno de forma fisiológica con una redistribución tridimensional ordenada durante al menos seis meses de cultivo *in vitro*.

También se realizó un ensayo clínico para evaluar la tolerancia y eficacia para el compuesto conocido como Deina® en infusión (composición mostrada en la tabla 3) en una base compasiva.

Finalmente, se realizó un ensayo clínico para evaluar la tolerancia y eficacia para el compuesto conocido como Deina® crema (composición mostrada en la tabla 5) en una base compasiva.

Sin quedar vinculado a ninguna teoría específica en este respecto, los presentes inventores consideran que los resultados obtenidos con el medio de cultivo de acuerdo con la presente invención han demostrado que la afección de atrofia en la evolución de los procesos degenerativos se puede invertir.

De acuerdo con esta divulgación, el medio de cultivo puede incluir otros ingredientes tales como por ejemplo, las sales inorgánicas habituales, azúcares, péptidos, aminoácidos y vitaminas requeridas para el mantenimiento y/o crecimiento de células de mamífero en un cultivo, así como cualquier agente antibiótico y/o antimicroorganismo necesario para evitar la contaminación de los cultivos.

Los ejemplos que siguen se proporcionan puramente a modo de ilustración.

CONCLUSIONES

El uso del compuesto Deina® ha demostrado que puede resolver las enfermedades atróficas ya sean sencillas o complicadas por inflamación crónica o la calcificación reactiva tanto *in vitro* como *in vivo*.

El uso del compuesto Deina® también ha demostrado una tolerancia óptima en todos los pacientes tratados, sin ningún efecto aparente de naturaleza sistémica, independientemente de diferencias en la edad, complejidad, sexo y localización del tratamiento.

EJEMPLO 1.

Biopsias y soluciones prototipo

Biopsias

Las muestras animales de biopsia en la investigación comprendieron biopsias de:

- lesiones cutáneas atróficas crónicas debido a estasis venosa (base y márgenes),
- cartílago articular dañado (artritis osteoarticular degenerativa crónica),
- cuero cabelludo cicatricial terminal (lesiones postraumáticas o quirúrgicas),
- hiperqueratosis de la cavidad oral (insuficiencia de vitamina B).

Todas las muestras se lavaron tres veces con solución salina fisiológica y antibióticos (100 unidades/ml de penicilina+ 100 µg/ml de estreptomicina + 160 mg/l de gentamicina, fluconazol 0,2 mg/ml) durante 10 minutos a temperatura ambiente.

A continuación, se seccionaron las biopsias en tres partes (dos controles, 1 y 2, y una muestra, 3, a tratar para cada paciente) y se suspendieron en un volumen final de 25 ml de las correspondientes soluciones de cultivo en portaobjetos de 10 cm (portaobjetos de cámara Lab-Tek, Nunc, Kamstrup, Dinamarca).

Se prepararon dos tipos de controles, un control negativo no tratado (1), que es uno tratado con solución salina fisiológica y antibióticos solo (como se describe anteriormente), y control positivo (2) tratado con medio para cultivo celular habitual para biopsias cutáneas.

1. Control negativo: Se suspendieron especímenes controlados de biopsia 1 en solución fisiológica entre portaobjetos de 10 cm (portaobjetos de cámara Lab-Tek, Nunc, Kamstrup, Dinamarca).

2. Control positivo: Se dispusieron 2 especímenes de biopsia controlados entre portaobjetos de 10 cm (portaobjetos de cámara Lab-Tek, Nunc, Kamstrup, Dinamarca) en medio D-MEM complementado con:

- FBS al 10 % (Celbio, Milan, Italia)
- 160 mg/l de gentamicina (Schering-Plough, Milan, Italia)
- L-glutamina 2 mM (Life Technologies; medio de crecimiento)
- 50 ng/ml del EGF (factor de crecimiento epidérmico, Sigma Aldrich, Milan, Italia), para biopsias de piel, mucosa y cuero cabelludo,
- 20 ng/ml de TGF-beta 1+ 20 g de TGF-beta 3 (factor de crecimiento transformante beta, Sigma Aldrich, Milan, Italia), para biopsias cartilaginosas.

3. Muestras -1 y -2. Se dispusieron las muestras de biopsias 1 y 2 entre portaobjetos de 10 cm (portaobjetos de cámara Lab-Tek, Nunc, Kamstrup, Dinamarca) en el medio en una solución de medio de cultivo Deina(R) (prueba doble).

Se incubaron todas las muestras durante 15 días en una incubadora Heraeus termostáticamente controlada a una temperatura de 37 °C con una atmósfera que contiene un 5 % de CO₂ proporcionado de forma constante (v/v en aire). Se reemplazaron 2/3 del medio de cultivo cada 7 días. Todos los tejidos de biopsia usados en el cultivo constituyen un posible soporte de acondicionamiento simultáneo opcional para el crecimiento tridimensional de las muestras celulares estudiadas.

Protocolo de tinción

Después de tres lavados durante 10 min a temperatura ambiente en PBS (pH 7,4), se resuspendieron las muestras en solución de fijación de paraformaldehído al 4 % en D-MEM (Gibco) a un pH de 7,4, durante 1 hora a temperatura ambiente. Todas las biopsias implicadas en el estudio se trataron con Azul Alcían. Esta tinta comprende un grupo de tintas solubles en agua básica multiuso. El color azul se debe a la presencia de cobre en la molécula. Se añadió Azul Alcían en solución en PBS (pH 7,4) en una concentración final de un 1 % p/v a una solución al 3 % de ácido acético (pH 2,5). Después de la incubación durante 2 horas a temperatura ambiente, esta composición quedó teñida de

forma indeleble uniendo los mucopolisacáridos y ambas glucoproteínas de sulfonato y carboxilato. Se prepararon controles específicos para cada muestra. Se lavaron todas las muestras 3 veces con PBS (pH 7,4) a temperatura ambiente durante cinco minutos y a continuación se observó en un microscopio óptico. Se notó un incremento neto en colágeno tipo 2 y tipo 4, que se vuelve de color azul, en las muestras 1 y muestras 2 tratadas con medio de cultivo Deina® en comparación con el control 1 y control 2 [2].

Resultados

Tinción con el procedimiento colorimétrico de Azul Alcían

- Controles negativos 1 tratados con solución salina fisiológica: coloración azul difusa (puntuación =++++) alternando con áreas citolíticas y necróticas.
- Controles positivos 2 tratados con medio de cultivo de biopsia habitual como se describe anteriormente. Se notó coloración azul difusa muy fuerte (Azul Alcían, (puntuación =++++)).
- Muestras tratadas con solución de medio de cultivo Deina®. Se destacó que las células en las que se produjo el redépósito de mucopolisacáridos en glucoproteína se tiñeron claramente con Azul Alcían creciendo en capas superpuestas y se ordenaron con una distribución fisiológica de mucopolisacáridos y GAG (puntuación =++++).

Microscopio óptico

Estos resultados indican la reactivación o regeneración tisular en las muestras de biopsia para los grupos de tratamiento (muestra 1 y muestra 2 (Deina®)). Los resultados relativos a la expresión de citoqueratina 10 y 11 y la tinción histológica de las preparaciones de biopsia con hematoxilina/eosina (usadas para presentar la vitalidad cutánea, de condrocitos, mucosa y folicular) se muestran en la tabla 6 (CONTROLES) y la tabla 7 (MUESTRAS), y se han expresado usando una escala cualitativa y semicuantitativa.

A partir de un examen de los resultados en la tabla 7 se observará que bajo el microscopio óptico (tinción con eosina y hematoxilina) se produjo un incremento neto en el número de células en las muestras tratadas durante dos meses que pertenecían al grupo de tratamiento (Deina®). Además de esto, todos los tejidos parecían tróficos, vitales y activos en las muestras incluidas en la muestra de grupo de tratamiento (Deina®) en comparación con controles. Finalmente, existe una predominancia neta de citoqueratina 10 y 11, típica de tejidos de tegumentos normales y tejidos de cuero cabelludo que tienen folículos vitales (la tabla 7).

Tabla 6.

Controles que pertenecen al tipo 1 y controles que pertenecen al tipo 2: la mediana del día de necrosis irreversible es el día 15 para los controles que pertenecen al tipo 1. La mediana del día para necrosis irreversible es igual al día 60 para los controles que pertenecen al tipo 2.

Tabla 6

Marcadores	Control 1 día 7	Control 1 día 15	Control 2 día 7	Control 2 día 60
<i>Citoqueratina 10</i>	---	+	+++	++
<i>Citoqueratina 11</i>	-/+	+	+++	+
<i>Los núcleos/citoplasma conservaron la eosina/hematoxilina</i>	necrosis masiva	necrosis difusa	tejidos tróficos	necrosis vacuolar
<p><i>Clave</i> ---- = sin fluorescencia + = fluorescencia ligera en el campo óptico ++ = algo de fluorescencia en el campo óptico +++ = fluorescencia media en el campo de fluorescencia óptica en el campo óptico ++++ = fluorescencia alta en el campo óptico +++++ = fluorescencia difusa en el campo óptico</p>				

Tabla 7.

Muestras que pertenecen al tipo de muestra del grupo de tratamiento (Deina®). Mediana de los valores semicuantitativos para los días de incubación 7 y 60.

Tabla 7

Marcadores	Muestras 1 día 7	Muestras 1 día 60	Muestras 2 día 7	Muestras 2 día 60
Citoqueratina 10	+++	+++++	+++	+++++
Citoqueratina 11	+++	+++++	+++	+++++
Los núcleos/citoplasma conservaron la eosina/hematoxilina	morfología óptima	morfología óptima	morfología óptima	morfología óptima
Clave ---- = sin fluorescencia + = fluorescencia ligera en el campo óptico ++ = algo de fluorescencia en el campo óptico +++ = fluorescencia media en el campo de fluorescencia óptica en el campo óptico ++++ = fluorescencia alta en el campo óptico +++++ = fluorescencia difusa en el campo óptico				

5 **Bandas western**

Se sometieron las muestras a análisis de fenotipo bandas Western para los marcadores (Santa Cruz Biotechnology, América, California) y colágeno tipo I, anti-colágeno tipo II, anti-colágeno tipo IV, anti-citoqueratinas 1, 5, 8, 10, 14, 15, 18, 19 y anti-agrecano. Después de cinco lavados, se incubaron las membranas con los correspondientes anticuerpos secundarios (1:1000) conjugados con peroxidasa de rábano picante (HRP, Santa Cruz, California, EE. UU.) durante 1 hora a temperatura ambiente, como se muestra en la tabla 10 a continuación.

10 **Caracterización de biopsias de piel atrófica tratadas con medio de cultivo Deina(R) frente a controles**

15 Otras expresiones de colágeno tipo I indican una tendencia a regeneración hipertrófica. Las expresiones altas de CK10 y CK14 indican un componente queratósico fuerte y atrofia del tejido cutáneo. Los resultados relativos a la expresión de colágeno tipo I, colágeno tipo IV y citoqueratina 1, 5, 10 y 14 se muestran en una escala cuantitativa como sigue:

20 **Tabla 8**

Marcadores	Control (1)	Control (2)	Muestra 1	Muestra 2
Colágeno tipo I	-/+	+++	+++	+++
Colágeno tipo IV	-/+	+++	+++	+++
Citoqueratina 1	++++	+++	+++++	+++++
Citoqueratina 5	++++	+++++	+++++	+++++
Citoqueratina 10	++++	+++++	+++	+++
Citoqueratina 14	+++++	++	++	++
Clave --- = sin banda -/+ = ligera presencia de una banda + = banda fina presente ++ = banda media presente +++ = banda extensa presente ++++ = banda alta presente +++++ = banda muy fuerte presente				

25 **Caracterización de biopsias cartilaginosas atróficas tratadas con medio de cultivo de Deina® frente a controles**

Una baja expresión de colágeno tipo II y agrecano indica degeneración cartilaginosa sin atrofia, distrofia y pérdida de masa. Los resultados con relación a la expresión de tipo II y de agrecano se han expresado en una escala cuantitativa como sigue:

Tabla 9

Marcadores	Control (1)	Control (2)	Muestra 1	Muestra 2
Colágeno tipo II	-/+	+++	+++++	+++++
Agrecano	++	+++	+++++	+++++
Clave --- = sin banda -/+ = ligera presencia de una banda + = banda fina presente ++ = banda media presente +++ = banda extensa presente ++++ = banda alta presente +++++ = banda muy fuerte presente				

5 **Caracterización de biopsias de mucosa atrófica e hiperqueratosis tratadas con medio de cultivo de Deina® frente a controles**

Una alta expresión de citoqueratina (o CK) 10 y CK14 y de colágeno tipo I indica una queratinización mucosa alta. Los resultados relativos a la expresión de colágeno tipo I, colágeno tipo IV y CK1, CK5, CK10 y CK14 se han expresado en una escala cuantitativa como sigue:

10

Tabla 10

Marcadores	Control (1)	Control (2)	Muestra 1	Muestra 2
Colágeno tipo I	+	++++	++	++
Citoqueratina 1	+++	+++++	+++	+++
Citoqueratina 5	++++	+++++	++++	++++
Citoqueratina 10	+++	+++++	++++	++++
Citoqueratina 14	+++++	++++	++	++
Clave --- = sin banda -/+ = ligera presencia de una banda + = banda fina presente ++ = banda media presente +++ = banda extensa presente ++++ = banda alta presente +++++ = banda muy fuerte presente				

15 **Caracterización de cuero cabelludo con biopsia de tejido de atrofia bulbar y postcicatrización tratada con medio de cultivo de Deina® frente a controles**

Las altas expresiones de citoqueratina (o CK) 15 y colágeno tipo IV indican una alta atrofia del bulbo que forma el cabello. Se sabe que las células estaminales de la piel son positivas para citoqueratina 19 (CK19). Se puede usar la expresión de CK19 como indicador de las células estaminales presentes en los folículos formadores de cabello y los cultivos celulares de estos folículos formadores de cabello. Los resultados relativos a la expresión de colágeno tipo I, colágeno tipo IV y CK1, CK5, CK10 y CK14 se expresan en una escala cuantitativa como sigue:

20

Tabla 11

Marcadores	Control (1)	Control (2)	Muestra 1	Muestra 2
Colágeno tipo I	+	++++	++	++
Colágeno tipo IV	++++	+++	++	++
Citoqueratina 1	+++	+++++	+++	+++
Citoqueratina 5	++++	+++++	++++	++++
Citoqueratina 10	+	+++	+++	+++
Citoqueratina 11	+++	++++	++	++

Marcadores	Control (1)	Control (2)	Muestra 1	Muestra 2
Citoqueratina 15	+++++	++++	++	++
Citoqueratina 19	++++	++++	++++	++++
<p><i>Clave</i> --- = sin banda -/+ = ligera presencia de una banda + = banda fina presente ++ = banda media presente +++ = banda extensa presente ++++ = banda alta presente +++++ = banda muy fuerte presente</p>				

Los resultados histológicos in vitro obtenidos en cultivo tanto a corto plazo (7 días) como a lo largo de un periodo de hasta dos meses con las soluciones prototipo en la tabla 1 (Muestras 1 y 2, Deina®) frente a las soluciones de control 1 (control negativo, fisiológico) y control 2 (control positivo, factores de crecimiento) confirman:

- para todas las biopsias tratados con solución Deina®, denominada como muestra 1 y muestra 2, se formó tejido eutrófico morfológicamente óptimo y persistió con el tiempo,
- para todas las biopsias tratadas con solución de Control 1, se formó tejido necrosado,
- para todas las biopsias tratadas con solución de Control 2 solución, se formó tejido trófico.

Ejemplo 2.

Formulaciones de Deina® CREMA.

Ensayo clínico in vivo 1.

Se realizó un ensayo clínico para evaluar la tolerancia y la eficacia terapéutica de los productos conocidos como Deina® CREMA (composiciones mostradas en la tabla 5) en la regeneración y reparación de la piel y tejidos subcutáneos (realización fuera del alcance de la invención).

Este ensayo se realizó en mamíferos en una muestra que comprende 20 perros y 20 gatos (de diferentes razas y tamaño; 20 individuos de cada raza tratados con Deina® CREMA), y de diferente edad y diferentes razas que presenten lesiones cutáneas atribuibles a atrofia tisular (perros: consecuencias de heridas lacerantes y magulladuras, consecuencias de heridas quirúrgicas, consecuencias de lamer las heridas y consecuencias de quemaduras).

Los individuos afectados por las lesiones mencionadas anteriormente se seleccionaron en el examen de inclusión.

Los animales se llevaron a un examen clínico de comprobación semanal hasta que se curaron y se sometieron a un examen citológico y una evaluación de la extensión y profundidad de la lesión cutánea.

La composición Deina® CREMA se ha usado en dos aplicaciones diarias durante un periodo de no menos de 35 días hasta un máximo de 90 días. En ningún caso se encontró fenómeno alguno de alergia o intolerancia, de hecho, en la mayoría de los casos los pacientes mostraron una fuerte atenuación del prurito y dolor unos pocos días después de iniciar el tratamiento. Se encontró inicialmente hiperemia en casi todos los pacientes como efecto de la vasodilatación superficial inducida por las dos composiciones en investigación. Este epifenómeno positivo puede indicar una resolución parcial de la afección isquémica hallada en el área perilesional. Sin embargo, la hiperemia se atenuó progresivamente a medida que se continuó con el tratamiento. En la mayoría de los pacientes se obtuvo una regresión total o casi total de las lesiones (72 %).

Se lograron buenos resultados con la mayoría de las lesiones atróficas debido a estasis (90 %), con normalización de color y una reducción en las dimensiones.

En lesiones postraumáticas crónicas, se encontró una reducción significativa en estas junto con una recuperación de sustancia (70 %) junto con cambios macroscópicos tales como cambio en el color, atenuación de áreas fibrosas y reepitelización espontánea.

Formulación Deina® en infusión.

Ensayo clínico in vivo 2.

Protocolo

1. Personas incluidas en el estudio

Veinte casos (perros de diferente raza, tamaño, peso corporal, sexo y edad).

2. Criterios de inclusión

Cambios en articulaciones bilaterales.

3. Procedimiento clínico

Se adoptaron los siguientes procedimientos para todos los perros examinados.

4. Procedimiento

La cantidad de solución inoculada era igual a la cantidad de líquido sinovial aspirado y analizado.

a. Tiempo cero

- Recogida de historia clínica y exploración clínica que comprende hemogramas completos, incluyendo LACTATOS para comprobar la oxidación metabólica,
- radiografía de la extremidad en cuestión,
- ROM (amplitud de movimiento),
- artroscopia exploradora,
- exclusión de cualquier legrado,
- artrocentesis con retirada y exploración morfológica/citológica y bioquímica del líquido sinovial,
- examen histológico de una muestra del cartílago articular,
- inoculación intrarticular de las soluciones sometidas a prueba igual a la cantidad de líquido sinovial extraído y siempre de la misma manera (lesiones bilaterales): de Deina®.

Un examen sinovial e inyección intraarticular de la solución se repitió a la semana o durante cuatro/ocho veces, dependiendo de la gravedad de la afección patológica inicial.

b. Final del ciclo de tratamiento

- Artrocentesis con retirada y exploración morfológica/citológica y bioquímica del líquido sinovial,
- examen histológico de una muestra del cartílago articular,
- radiografía de la articulación en cuestión,
- ROM (amplitud de movimiento),
- contenido en ácido láctico en sangre,
- exploración clínica e historia clínica.

CONCLUSIONES

El uso del producto denominado como "Deina®" en los ensayos clínicos se llevó a cabo en 20 perros de distintas razas y tamaño mostró una tolerancia óptima en todos los pacientes sin ningún efecto aparente de tipo sistémico, independientemente de las diferencias en edad, tamaño, sexo y localización articular. El ROM (intervalo de movimiento) se incrementó en un 90 % de los casos, aunque se produjo una mejora clínica en un 70 %. El dolor y palpación disminuyeron en el 100 % de los casos. Se debe resaltar que la facilidad relativa de inoculación intrarticular es una cuestión de satisfacción con los propietarios de los 20 perros tratados.

La enfermedad de cartílago articular puede afectar a pacientes de cualquier edad, pero se hace particularmente importante cuando se produce en los pacientes jóvenes que participan en una vida activa.

Se sabe que a diferencia de tejido óseo que tiene una gran capacidad regenerativa, el cartílago hialino, que es uno de los principales tejidos en el aparato musculoesquelético, se caracteriza por una ausencia de soporte de la sangre, sistema linfático y nervioso, lo que es esencial para la reparación tisular. De hecho sólo pequeñas pérdidas de sustancia se llenan por tejido fibroso-cartilaginoso, mientras que las de mayor tamaño rara vez se llenan.

El restablecimiento de un microentorno fisiológico da como resultado la reconstitución de la matriz cartilaginosa en funcionamiento normal en un periodo de tiempo corto.

REFERENCIAS

1. Costa AM, Peyrol S, Porto LC, Comparin JP, Foyatier JL, Desmouliere A. Mechanical forces induce scar

remodeling. Study in non-pressure-treated versus pressure-treated hypertrophic scars. *Am J Pathol.* 1999 Nov; 155(5):1671-9.

2. French MM, Smith SE, Akanbi K, Sanford T, Hecht J, Farach-Carson MC, Carson DD. Expression of the heparan sulfate proteoglycan, perlecan, during mouse embryogenesis and perlecan chondrogenic activity in vitro. *J Cell Biol.* 1999, May 31; 145(5):1103-15.

3. Robinson M, Reynolds AJ, Gharzi A, Jahoda CA. In vivo induction of hair growth by dermal cells isolated from hair follicles after extended organ culture. *J Invest Dermatol.* 2001 Sep; 117(3):596-604.

4. Kafi R, Kwak HS, Schumacher WE, Cho S, Hanft VN, Hamilton TA, King AL, Neal JD, Varani J, Fisher GJ, Voorhees JJ, Kang S. Improvement of naturally aged skin with vitamin A (retinol). *Arch Dermatol.* 2007 May; 143(5):606-12.

5. Rabinovitch M y De Stefano M J. Cell shape changes induced by cationic anesthetics. *J Exp Med.* 1976; 143:290-304.

REIVINDICACIONES

- 5 1. El compuesto ácido 3-[3,5-dihidroxi-3-(2-hidroxi-acetil)-3 α ,6-dimetil-7-oxo-dodecahidro-ciclo-penta[α]naftalen-6-il]-propiónico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento terapéutico de un tejido atrófico seleccionado del grupo que consiste en tejido mucoso, tejido cartilaginoso, tejido conjuntivo osteoarticular, tejido vascular y tejido nervioso.
- 10 2. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el tejido mucoso está seleccionado del grupo que consiste en mucosa oral, tejido periodontal, tejido periocular y tejido mucoso nasal.
- 15 3. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que la atrofia es de naturaleza inflamatoria, isquémica o degenerativa.
- 20 4. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el dicho compuesto se formula en una composición farmacéutica o medicamento adecuado para administración sistémica, preferentemente parenteral, percutánea, en infusión, oral o rectal.
- 25 5. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 3 o 4, en el que el tratamiento terapéutico está seleccionado del grupo que consiste en: tratamiento de alivio del dolor; el tratamiento de condropatía y/o artropatía; el tratamiento de artritis osteoarticular degenerativa crónica; el tratamiento de cambios en articulaciones bilaterales; el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central de tipo isquémico-atrójico; el tratamiento de enfermedades del tejido nervioso periférico; el tratamiento de afecciones de choque de una naturaleza atrójica-isquémica; el tratamiento de enfermedades vasculares centrales y/o periféricas que tienen una etiología micro- y/o macro-isquémica-atrójica o calcificaciones; el tratamiento de atrofia o distrofia del cuerpo cavernoso, ya sea sencilla o complicada por la calcificación o fibrosis reactiva, con o sin inflamación crónica; el tratamiento de tejido atrójico con calcificaciones; el tratamiento de enfermedades de los tendones; el tratamiento de lesiones postraumáticas o quirúrgicas.
- 30 6. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso en el tratamiento terapéutico de la mucosa por medio de la estimulación de la regeneración y/o la recuperación del trofismo original de dicha mucosa cuando está en una afección original o reactiva de atrofia sencilla o complicada de naturaleza inflamatoria y/o isquémica y/o degenerativa y/o calcificante en un mamífero.
- 35 7. El compuesto para su uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso en el tratamiento terapéutico de tejido conectivo osteoarticular a través de la estimulación de la regeneración y/o la recuperación del trofismo original, en el dicho tejido conjuntivo cuando el último está en una afección original o reactiva de atrofia sencilla o complicada de naturaleza inflamatoria y/o isquémica y/o degenerativa y/o calcificante en un mamífero.
- 40 8. Una composición farmacéutica que comprende ácido 3-[3,5-dihidroxi-3-(2-hidroxi-acetil)-3 α ,6-dimetil-7-oxo-dodecahidro-ciclo-penta[α]naftalen-6-il]-propiónico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un tratamiento terapéutico como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
- 45 9. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, que comprende el compuesto ácido 3-[3,5-dihidroxi-3-(2-hidroxi-acetil)-3 α ,6-dimetil-7-oxo-dodecahidro-ciclo-penta[α]naftalen-6-il]-propiónico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo a una concentración en el intervalo del 0,01 mg/ml a 100 mg/ml, preferentemente de 0,1 mg/ml a 20 mg/ml, aún más preferentemente de 0,5 mg/ml a 10 mg/ml.
- 50 10. La composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, que es una composición farmacéutica en una forma liofilizada, crema, gel, espuma, suero, loción, polvo, parche, película o recubrimiento, en forma de una inyección, en forma de un líquido perfundido, en forma de una suspensión o emulsión, en forma de una pulverización, en forma de un comprimido o supositorio, o en cualquier forma adecuada para administración oral, rectal, en infusión, intramuscular, endovenosa, transcutánea, intraocular y endonasal.