

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 544 780**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4425 (2006.01)

A61K 31/4015 (2006.01)

A61K 31/4415 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.03.2010 E 10712519 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.05.2015 EP 2403495**

54 Título: **Metadoxina para su uso como inhibidor de fibrosis hepática**

30 Prioridad:

06.03.2009 IT MI20090333

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

03.09.2015

73 Titular/es:

**LABORATORI BALDACCI SPA (100.0%)
Via San Michele degli Scalzi 73
56100 Pisa, IT**

72 Inventor/es:

BALDACCI, MASSIMO

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones :

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

ES 2 544 780 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

Metadoxina para su uso como inhibidor de fibrosis hepática

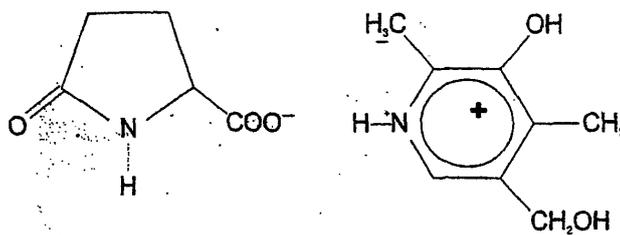
La presente invención se define en las reivindicaciones adjuntas.

5 Las materias sujeto que no están abarcadas por el alcance de las reivindicaciones no forman parte de la presente invención.

El objeto de la presente invención está representado por el uso terapéutico de metadoxina en el tratamiento de la fibrosis hepática.

Técnica antecedente

10 Se conoce la metadoxina, o L-2-pirrolidona-5-carboxilato de piridoxol, cuya fórmula estructural se notifica a partir de ahora en el presente documento



15 por su eficacia en el alcoholismo agudo y crónico y para la prevención de la patología relacionada con el alcohol (1, 2, 3); la metadoxina se comercializa actualmente como principio activo del fármaco metadoxil. La capacidad de la metadoxina para acelerar la eliminación del alcohol del plasma y de los tejidos (4), para reducir los daños inducidos por el alcohol en la estructura y la funcionalidad de los hepatocitos están bien documentados, junto con su eficacia contra los trastornos neuropsicológicos presentes en los alcohólicos crónicos (5, 6).

Sin embargo, hasta la fecha no se había demostrado nunca que dicha sustancia pudiera intervenir sobre los mecanismos biomecánicos que originan la fibrosis, que representan el resultado patogenético clave de todas las enfermedades hepáticas que evolucionan hacia la cirrosis de cualquier etiología (7).

20 Los datos más recientes notificados en la bibliografía reconocen la fibrogénesis como el mecanismo común de la patología hepática que se desarrolla debido a la inflamación, asociada con la presencia de virus hepáticos, procedimientos inmunológicos o factores predisponentes tales como diabetes, obesidad, hiperlipidemia y una dieta incorrecta (8, 9).

25 La fibrosis hepática es una acumulación excesiva de proteína de matriz extracelular en presencia de una enfermedad inflamatoria crónica cualquiera.

30 La progresión de la fibrosis hepática es muy lenta y los parámetros plasmáticos que se analizan normalmente para evaluar la funcionalidad hepática no son universalmente aceptados como indicadores de gravedad de la fibrosis y varían ligeramente con la progresión de la enfermedad. Se han propuesto varios procedimientos no invasivos que son útiles para predecir el grado de la fibrosis hepática, pero solo la biopsia hepática con el examen histológico se considera el parámetro "patrón de oro", que identifica la gravedad y la progresión de la fibrosis.

35 El estudio de la génesis y la evolución de la fibrosis hepática desde un punto de vista clínico es difícil de solucionar y, por consiguiente el tratamiento dirige usualmente a eliminar las causas de la inflamación crónica debidas a infección vírica, fenómenos autoinmunes o alteraciones metabólicas. La eliminación de las causas del proceso inflamatorio (por ejemplo, eliminación del virus) pueden retrasar la fibrogénesis o incluso retrotraer las modificaciones estructurales que se han originado en el hígado hasta la normalidad. Sin embargo, en algunos casos, la fibrosis puede evolucionar a cirrosis y dar lugar a complicaciones clínicas graves que requieren el trasplante de hígado incluso cuando se han eliminado las causas de la inflamación crónica.

40 No existe tratamiento normalizado para la fibrosis hepática. El tratamiento antifibrótico ideal consiste en una sustancia que debe ser específica del hígado, bien tolerada cuando se administra incluso durante largos periodos de tiempo y eficaz en la reducción de la deposición excesiva de colágeno sin dar lugar a modificaciones del metabolismo normal de las células estrelladas hepáticas.

Entre los fármacos que se proponen como agentes antifibróticos se encuentran los corticoesteroides, debido a su actividad antiinflamatoria, los antioxidantes (vitamina E, S-adenosilmetionina) los inhibidores de la fosfodiesterasa (pentoxifilina) y los inhibidores del sistema renina-angiotensina.

45

Es universalmente conocido que los fibroblastos son los mayores productores de colágeno en el hígado que está sometido a episodios inflamatorios crónicos, El modelo de fibroblastos humanos *in vitro* representa el procedimiento más normalizado para mostrar la proliferación de estas células y para el análisis de los mediadores implicados en el desarrollo celular.

- 5 Por este motivo, los inventores han llevado a cabo un estudio *in vitro*, que se detalla en la Parte Experimental de este documento, a fin de mostrar el efecto inhibitorio de la metadoxina en la fibrogénesis hepática.

Los resultados experimentales obtenidos y descritos en la Parte Experimental de este documento muestran la actividad antifibrótica de la metadoxina, que podría por tanto utilizarse en todas las formas de patología hepática en las que el daño hepático es debido a un procedimiento fibrótica con la evolución de la enfermedad hacia patologías más graves tales como cirrosis o carcinoma hepático.

10

Sección experimental

Los procedimientos utilizados permiten evaluar el efecto de las sustancias proporcionadas con potencial actividad antifibrótica sobre la proliferación de fibroblastos.

Se utilizó una línea de fibroblastos humanos inmortalizados, mantenidos en cultivo en un medio adecuado.

- 15 A fin de llevar a cabo los experimentos de proliferación, los fibroblastos se despegaron del matraz por medio de tripsinización, se contaron y distribuyeron en placas de fondo plano de 96 pocillos a la concentración de 2000 células/100 µl de medio.

Se añadieron concentraciones escalares de metadoxina (intervalo de concentración de 10^{-11} M a 10^{-3} M).

20 Se mantuvieron las placas en una incubadora de CO₂ a 37°C. Se midió la proliferación de las células a intervalos de 24 h hasta 120 h utilizando el procedimiento de Mosmann (10) basado en la determinación espectrofotométrica de la conversión de MTT [3-(bromuro de 4,5 dimetiltiliazol-2-il)-2-5 difeniltetrazolio] a su producto de reducción de color azul, formazán, mediante las enzimas mitocondriales de las células metabólicamente activas. Se determinaron las densidades ópticas (D.O.) por medio del espectrofotómetro Titertek Multiscan (Flujo) con un filtro de 540 nm.

25 Las DO de las muestras se expresaron como porcentajes de las muestras con respecto al grupo del control. Se añadió metadoxina en varias concentraciones (intervalo de 10^{-11} M – 10^{-3} M) y, a una concentración de 10^{-5} M, el efecto del producto estudiado sobre el crecimiento de los fibroblastos como células metabólicamente activas, que pueden alterar la síntesis del fibrinógeno, resulta evidente.

30 En la figura 1 se notifica la actividad antifibrótica de la metadoxina, expresada en porcentaje con respecto al grupo del control, medida después de 120 h a partir del primer tratamiento, con tratamientos repetidos cada 24 h, de acuerdo con la técnica normalizada (9).

Como se puede mostrar a partir de los resultados experimentales obtenidos, metadoxina puede inhibir la actividad fibrinógena de los fibroblastos ya a concentraciones de 10^{-5} M. Dicho modelo experimental se usa normalmente para someter a ensayo la actividad antifibrótica de sustancias que resultan también eficaces en la patología hepática humana.

35 Los datos de los inventores demuestran que la metadoxina tiene actividad antifibrótica en un intervalo de concentraciones comprendido entre 10^{-6} M y 10^{-5} M. Dicha actividad es comparable a la de los corticoesteroides y es quizá incluso mayor. Metadoxina puede emplearse por tanto para dicha actividad como inhibidor de la fibrogénesis hepática.

Conclusiones

40 Los resultados obtenidos con este estudio *in vitro* (los valores del porcentaje notificados en la figura representan el promedio de tres ensayos experimentales) son sin duda de interés científico debido al hecho de que muestran la actividad inhibitoria de metadoxina sobre la fibrogénesis hepática. Debe subrayarse que las concentraciones a las cuales el producto es eficaz son 2-3 veces menores que las que se han obtenido *in vivo* en el paciente tratado por vía oral con 500 mg de dosis de metadoxina, en patologías convencionales.

45 Además, la tolerabilidad óptima del producto de metadoxina es bien conocida en el mercado desde hace muchos años, y se ha utilizado como un fármaco protector frente a los daños en tejidos inducidos por alcohol; su uso actual como molécula que puede alterar la fibrogénesis hepática adquiere una significancia terapéutica adicional.

50 El objeto de la presente invención está por tanto representado por metadoxina en el tratamiento de la fibrosis hepática, preferentemente no dependiente de alcohol (NASH) y, en particular, en formulaciones farmacéuticas basadas en metadoxina útiles para el tratamiento de la fibrosis hepática.

La metadoxina resulta eficaz en la fibrosis hepática debida a un estado inflamatorio agudo y/o crónico del hígado; dicha patología puede asociarse también con la presencia de virus hepáticos, con hiperlipidemia, con hiperglicemia

y/o con otros factores metabólicos alterados.

5 El objeto adicional de la presente invención está por tanto representado por metadoxina en el tratamiento de la fibrosis hepática asociada con un estado inflamatorio agudo y/o crónico del hígado y/o con la presencia de virus hepáticos, con hiperlipidemia con hiperglicemia y/o con otros factores metabólicos alterados. En el tratamiento de la fibrosis hepática, metadoxina y/o las formulaciones que lo contienen se administran por vía oral, preferentemente a un ser humano.

Un aspecto adicional de la invención puede especificarse en las formulaciones que contienen metadoxina, que se encuentran preferiblemente en forma de comprimidos, cápsulas y solución oral, y tienen un contenido de metadoxina comprendido entre 50 y 1000 mg por dosis, preferentemente entre 300 y 600 mg por dosis.

10 Además, en el tratamiento de la fibrosis hepática, la dosificación anteriormente mencionada comprendida entre 50 y 1000 mg de metadoxina por dosis, preferentemente entre 300 y 600 mg por dosis, se administra preferentemente mediante una dosificación de 2 o 3 veces al día.

Bibliografía

- 15 1) Addolorato G, Ancona C, Capisto E, Gasbarrini G: Metadoxine in the treatment of acute and chronic alcoholism: a review.
- 2) Diaz Martinez MCLR, Diaz Martinez A, Villamil Salcedo V, Cruz Fuentes C: Efficacy in the management of acute alcohol intoxication. *J Int Med Res*, 2002; 30: 44-51.
- 3) Santoni S, Corradini P, Zocchi M, Camarri F: La metadoxina nella patologia alcol-correlata. *La Clinica Terapeutica*, 1989; 130: 115-122.
- 20 4) Calabrese V, Carlino S, Chinnici V, De Bernardis E, Rizza V: La metadoxina modula le cinetiche di assorbimento, metabolismo ed eliminazione dell'etanolo. *Alcologia*, 1986; 5(1-2).
- 5) Intaschi G, Lattanzi L, Lombardi G, Panzera V, Guazzelli M, Maggini C: Gli effetti della metadoxina nella dipendenza da alcol: implicazioni per lo studio dei rapporti tra alcolismo e depressione. *Progressi in Psichiatria - Estratti dal Congresso - Roma 6-11 febbraio 1989*.
- 25 6) Carboni MA, Corsi R: Uso terapeutico della metadoxina nei disturbi psichici e comportamentali alcol-correlati. *Clin Ter*, 1987; 123: 469-473.
- 7) Wallace K, Burt AD, Wright MC: Liver fibrosis. *Biochem J*, 2008; 411:1-18.
- 8) Pinzoni M, Rombouts K: Liver Fibrosis: from the bench to clinical targets. *Digestive and Liver Disease*, 2004; 36: 231-242.
- 30 9) Bataller, R, Bremer DA: Liver fibrosis. *J Clin Inv*, 2005; 115: 209-218.

REIVINDICACIONES

1. Metadoxina para su uso en el tratamiento de la fibrosis hepática, **caracterizada porque** dicha metadoxina es para ser administrada por vía oral a un ser humano.
- 5 2. Metadoxina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada porque** dicha fibrosis hepática es una fibrosis no dependiente de alcohol (NASH).
3. Metadoxina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada porque** dicha fibrosis hepática está generada por un estado inflamatorio agudo o crónico del hígado.
4. Metadoxina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada porque** dicha fibrosis hepática está asociada con la presencia de virus hepáticos, hiperlipidemia, hiperglicemia y/u otros factores metabólicos alterados.
- 10 5. Metadoxina para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada porque** dicha formulación tiene un contenido de metadoxina comprendido entre 50 y 1000 mg por dosis.
6. Metadoxina para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, **caracterizada porque** dicha formulación tiene un contenido de metadoxina comprendido entre 300 y 600 mg por dosis.
- 15 7. Metadoxina para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizada porque** dicha dosis es administrada 2 o 3 veces al día.
8. Metadoxina para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizada porque** dicha formulación está en forma de comprimidos, cápsulas o solución.

Figura 1

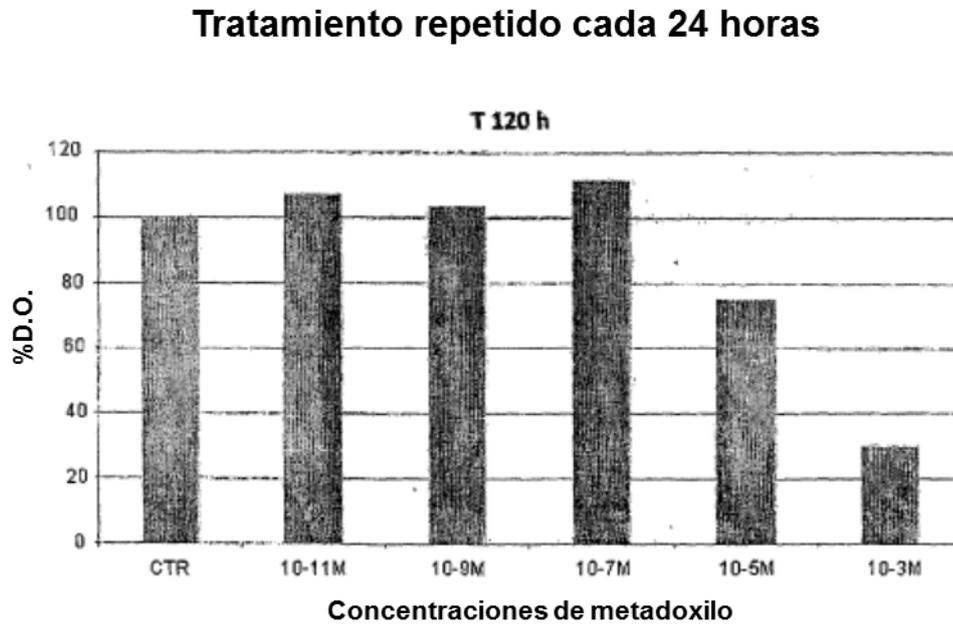


Figura 1 – Actividad inhibidora *in vitro* de metadoxina sobre la proliferación de fibroblastos humanos