

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 638 659**

51 Int. Cl.:

A61L 27/20 (2006.01)

A61L 27/52 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **23.04.2014 PCT/IB2014/060928**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.10.2014 WO14174450**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.04.2014 E 14731017 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.05.2017 EP 2988792**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas que contienen ácido hialurónico para su uso en el tratamiento de una discopatía degenerativa**

30 Prioridad:

24.04.2013 IT PD20130110

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

23.10.2017

73 Titular/es:

**FIDIA FARMACEUTICI S.P.A. (100.0%)
Via Ponte della Fabbrica 3/A
35031 Abano Terme (PD), IT**

72 Inventor/es:

**GIORDAN, NICOLA y
BELLATO, PIERANGELO**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 638 659 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 que contienen ácido hialurónico para su uso en el tratamiento de una discopatía degenerativa

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas en forma de hidrogeles para su uso en el tratamiento de la degeneración de discos intervertebrales, en particular las formas de deshidratación y vaciado del núcleo pulposo conocidas como "discopatía de color negro".

Antecedentes técnicos

10 La expresión genérica "dorsalgia" comprende una amplia gama de trastornos, cuya definición es a menudo incierta y cuya etiología resulta difícil de clasificar, que se caracterizan por un síntoma común: "dolor de espalda". La sección lumbosacral de la columna vertebral es una estructura fundamental; de todas las articulaciones de transición, sin duda es la que sufre más estrés, pero también es la más móvil, lo cual la expone a continuas sobrecargas y desequilibrios. El elemento fundamental de la columna vertebral es el disco intervertebral. Está colocado entre todos los tipos de vértebras y comprende dos subestructuras concéntricas: el anillo fibroso externo, que rodea al núcleo pulposo interno. El anillo fibroso es un tejido elástico estratificado que consiste en matriz extracelular enriquecida con una serie de fibras de proteínas (principalmente, colágeno de tipo II) dispuestas en zigzag, es decir, no están en orientación vertical. De modo específico, el anillo consiste externamente en fibras de colágeno de tipo I (conocidas como fibras de Sharpey), mientras que la parte central consiste en colágeno de tipo II y condrocitos. El núcleo pulposo es un tejido gelatinoso que consiste principalmente en agua (aproximadamente 15 85% en volumen en personas jóvenes sanas), en donde está embebida una matriz de proteoglicanos (que consisten principalmente en hialuronato, condroitina y sulfato de queratano) producida por los condrocitos que residen en la parte más interna del anillo fibroso. El núcleo pulposo actúa como soporte, que soporta y distribuye las fuerzas compresoras a las cuales es sometida continuamente la columna vertebral; y el anillo fibroso soporta las fuerzas de tensión y proporciona soporte mecánico y estabilidad a la columna. El disco intervertebral es una estructura avascular que obtiene su alimento de los vasos sanguíneos que suministran a las estructuras óseas adyacentes. 25

Como resultado de microtraumas, o simplemente del envejecimiento, en especial al nivel lumbosacral, el disco intervertebral sufre modificaciones estructurales que provocan el trastorno denominado "degeneración del disco intervertebral" (Yong-Soo, Asian Spine Journal, 2009, 3, 39-44). Implica un conjunto de fenómenos complejos, cuya etiología no siempre es uniforme, y que tiene diferentes características clínicas. Varía de una degeneración asintomática, que aparece en personas más jóvenes, a formas particularmente dolorosas que se complican por alteraciones posturales importantes. Estas últimas habitualmente (pero no siempre) aparece en personas mayores, y pueden ser provocadas por traumatismos, desgaste y desgarros, malnutrición o simplemente, como se ha indicado, por el envejecimiento de las estructuras que componen el disco intervertebral. Las diversas formas de degeneración del disco intervertebral incluyen un forma que se caracteriza por una reducción en el contenido de agua, que conduce a una reducción y una modificación de la estructura de las proteínas y los proteoglicanos que componen el nucleus pulposus; se deshidrata, se vacía y pierde su estructura gelatinosa y la clara demarcación con el anillo fibroso. La alteración degenerativa del disco aparece claramente en escaneados de RMN; tiene un aspecto globalmente más delgado que los discos sanos y muestra un cambio de color a diversos tonos de negro, debido a la reducción en el contenido en agua del nucleus pulposus. Esta situación patológica se conoce como discopatía de color negro. El adelgazamiento, así como la reducción en la capacidad del disco para absorber choques y proporcionar estabilidad a la columna, casi siempre viene acompañado de la liberación de factores inflamatorios, que generan un dolor intenso (Rengachary et al., Neurosurg. Focus, 2002, 13, E14). 30 35 40

45 En las siguientes etapas de la discopatía, el núcleo pulposo también puede presionar al anillo fibroso ("protuberancia"), que puede romperse produciendo una hernia.

En los casos menos graves se sigue una estrategia conservadora, basada en la fisioterapia asociada con el control del dolor, puesto que el dolor es muy agudo e incapacitante. Puesto que los analgésicos clásicos tienen poco o ningún efecto, durante un tiempo se ha empleado con éxito el tratamiento con ozono administrado mediante inyección; este tratamiento aprovecha la poderosa acción antioxidante, antiinflamatoria y, por tanto, analgésica del ozono. 50

En los casos más graves, además del control del dolor, se siguen buscando estrategias que sean eficaces desde el punto de vista funcional y que sean curativas de la discopatía de color negro, es decir, estrategias que reduzcan al menos parcialmente la causa y que restablezcan la estructura y la funcionalidad del núcleo pulposo. En la gran mayoría de los casos, la discopatía de color negro viene acompañada por defectos posturales, que, a su vez, generan más rigidez y dolor. 55

Una estrategia consiste en administrar células capaces de producir la matriz de proteoglicanos, tales como células pluripotenciales mesenquimáticas procedentes de la médula ósea, posiblemente combinadas con moléculas que estimulan la formación de matriz por las células residuales (tales como factores del crecimiento) y con inhibidores de citoquinas inflamatorias, en el nucleus pulposus. Esta estrategia intenta restablecer la matriz de proteoglicanos y controlar el dolor.

Sin embargo, estos tratamientos aún son experimentales y requieren una profunda verificación, debido a que son particularmente problemáticos (con respecto al número de células que se van a emplear, a las sustancias activas y sus concentraciones y el tipo de vehículo, por ejemplo). Sin embargo, la utilidad de administrar células al núcleo pulposo es algo controvertida; tal como se ha indicado previamente, esta estructura en un principio no contiene células y es avascular, lo cual significa que la proliferación de las células introducidas depende del suministro de sangre de las estructuras circundantes, que seguro se ve dificultada en situaciones patológicas.

La técnica que implica introducir en el núcleo pulposo un "soporte" capaz de absorber y distribuir la compresión, recreando con ello una condición similar a la condición fisiológica, resulta mucho más prometedora. El documento US2008/075657 A desvela un procedimiento para tratar la enfermedad degenerativa del disco o dolor discogénico, que comprende formar un hidrogel biocompatible mediante la gelificación de una premezcla líquida, en el que el hidrogel comprende un quitosano alquilado y un polisacárido oxidado, tal como hialuronano. El solicitante ha descubierto y demostrado que un "soporte" que consiste en un hidrogel con las siguientes características es particularmente adecuado para este tipo de aplicación:

- puede ser implantado de modo mínimamente invasivo, preferentemente con técnicas inyectables, y, por tanto, es fácilmente extrusionable;
- permanece in situ sin deslizarse del sitio de la implantación porque presenta unas características reológicas precisas;
- posee propiedades mecánicas (elasticidad, compresibilidad) adecuadas para soportar y redistribuir las compresiones;
- es altamente hidratable;
- es absolutamente seguro, tanto en su forma no modificada como en sus productos de degradación, que inevitablemente se originan por la actividad enzimática fisiológica.

El hidrogel cuya eficacia ha sido demostrada por el solicitante consiste en un derivado de ácido hialurónico. El ácido hialurónico (AH) es un heteropolisacárido de cadena lineal que consiste en restos alternantes de ácido D-glucurónico y N-acetil-D-glucosamina. En la naturaleza existen geles pericelulares, en la sustancia basal del tejido conectivo de vertebrados (del cual es uno de los constituyentes principales), en el fluido sinovial de las articulaciones, y en el humor vítreo y el cordón umbilical. Por tanto, el AH desempeña un papel importante en el organismo biológico, como soporte mecánico para las células de muchos tejidos, tales como la piel, los tendones, los músculos y el cartílago, y como fluido viscoso que absorbe los choques y se asegura de que las superficies de las articulaciones puedan deslizarse unas sobre otras.

El ácido hialurónico nativo tiene un peso molecular (PM) medio muy variable, que depende de la fuente de la cual se obtiene y de los procedimientos de preparación empleados, que varía de 50 a 13×10^6 Da.

Debe advertirse que, en la presente invención, "peso molecular medio" significa el peso molecular medio ponderado, calculado mediante el procedimiento de "viscosidad intrínseca" (Terbojevich et al., Carbohydr. Res., 1986, 363-377).

Una de las características fundamentales del AH es que puede modificarse de diversa forma desde el punto de vista químico para transformar sus características reológicas y mecánicas, manteniendo, al mismo tiempo, sus características biológicas inmutables.

El solicitante ha descubierto, de modo sorprendente, que de los numerosos derivados de AH conocidos en la técnica anterior (ésteres, derivados N- y O-sulfatados, ésteres internos, etc.), los más adecuados para la solicitud descrita en la presente invención son los que se obtienen mediante la formación de un enlace amida entre el carboxilo del resto ácido glucurónico y la hexadecilamina. El solicitante también ha demostrado que estos derivados no solo provocan una considerable reducción en los síntomas del dolor, evaluados mediante la comparación con el tratamiento con ozono que se emplea de modo convencional en la discopatía de color negro, sino que también producen una mejora funcional totalmente imprevisible.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas en forma de hidrogeles para su uso en el tratamiento de la degeneración de discos intervertebrales, en particular las formas de deshidratación y vaciado del núcleo pulposo conocidas como "discopatía de color negro". En particular, las composiciones farmacéuticas según

la invención son eficaces en el tratamiento del dolor en la discopatía de color negro y en el tratamiento necesario para corregir el ángulo de incidencia pélvica y alteraciones posturales asociadas con la discopatía de color negro.

Dichas composiciones comprende un derivado del ácido hialurónico que forma hidrogeles con unas características reológicas precisas que lo convierten en ideal para rellenar el nucleus pulposus. De modo específico, el derivado de AH empleado es hexadecilamida.

Tal como se indicó previamente, el AH puede tener un PM que varía de 50 a 13×10^6 Da. El AH utilizado en la presente invención puede derivar de cualquier fuente, tal como extracción de crestas de gallo (documento EP138572), fermentación (de *Streptococcus equi* o *S. zooepidemicus*, documento EP716688), o biosíntesis (de *Bacillus*, documento WO2012032153, documento WO2012032154), y tiene un peso molecular medio ponderado que varía entre 400 y 3×10^6 Da, en particular entre 10^5 Da y 10^6 Da, y aún más en particular entre 500.000 y 730.000 Da.

El derivado de amida empleado en la presente invención se prepara a partir de esta última fracción.

Los expertos en la técnica conocen las amidas del ácido hialurónico; por ejemplo, la preparación de una amplia gama de amidas del ácido hialurónico (de bencilo, octilo, dodecilo, etc.) se desvela en el documento EP1095064.

Solo la hexadecilamida preparada como se describe a continuación se emplea según la presente invención. Brevemente, el ácido hialurónico prederivatizado a una sal tetrabutilamonio (TBA) se solubiliza en dimetilsulfóxido (DMSO), y se añade ácido metansulfónico a la disolución resultante. Después se añade carbonildiimidazol y la mezcla se deja reaccionar con agitación durante una hora a temperatura ambiente. Después se añade hexadecilamina y la mezcla se deja reaccionar durante aproximadamente 16-24 horas a 40°C - 42°C . Entonces se añade una disolución saturada de NaCl para detener la reacción, y se añade etanol puro para aislar el derivado mediante precipitación. El precipitado se lava primero con una mezcla de agua y etanol y después solo con etanol, y por último se seca a un vacío elevado.

El grado de derivatización se controla variando la cantidad de reactivos utilizada y adaptando los tiempos de reacción; el grado de derivatización puede medirse mediante procedimientos conocidos en la técnica anterior, tales como HPLC. En el ámbito de la presente invención, el grado de amidación empleado varía del 0,1% al 10% molar, preferentemente del 1% al 3% molar, medido mediante HPLC después la hidrólisis de la amida y la conjugación de la hexadecilamina liberada con una sustancia fluorofórica.

Comenzando con el derivado obtenido de esta forma, un hidrogel puede formularse a una concentración que varía de 0,1 a 30 mg/ml, preferentemente de 3 a 20 mg/ml, y aún más preferentemente de 5 a 15 mg/ml. Los vehículos preferentemente utilizados son disolución salina o tampón fosfato.

En la composición farmacéutica preferida según la presente invención, el ácido hialurónico tiene un PM medio que varía entre 500.000 y 730.000 Da, el grado de amidación molar varía entre 1% y 3%, y la concentración de hexadecilamida del ácido hialurónico varía entre 5 y 15 mg/ml.

El hidrogel obtenido se somete a un procedimiento de esterilización según técnicas conocidas, por ejemplo, en un autoclave, después de ser introducido en jeringas desechables prerrellenas.

Independientemente de las concentraciones, el hidrogel obtenido es fácilmente extrusionable y viscoso para asegurarse de que permanezca in situ después de la aplicación, elástico para asegurarse de que absorba y redistribuya las cargas, y altamente hidratable; también conserva las características biológicas del polímero de origen, el ácido hialurónico, y, por tanto, es biocompatible, biorreabsorbible y totalmente inofensivo para el cuerpo en su estado no modificado y después de la degradación enzimática.

A la vista de sus características particulares, el hidrogel puede asociarse con sustancias biológica o farmacológicamente activas (tales como fármacos antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos, inhibidores de citoquinas y anestésicos locales) consideradas capaces de mejorar los síntomas de la discopatía de color negro. Estas sustancias pueden insertarse en la jeringa de modo extemporáneo antes de la aplicación al paciente, de modo que el hidrogel actúe como tratamiento para la discopatía de color negro y como vehículo de sustancias activas.

A continuación se ofrecen algunos ejemplos de preparación solo con fines descriptivos.

Ejemplo 1

Preparación del derivado de hexadecilamida del AH con un peso molecular medio ponderado que varía entre 500 y 730 kDa y un contenido en amidación molar que varía entre 1 y 3%

Se solubilizan 2 g de AH prederivatizado a una sal TBA en 200 ml de DMSO, y se añaden 64 µl de ácido metanosulfónico a la disolución resultante; después se añaden 52 mg de 1-l'- carbonildiimidazol y se deja reaccionar con agitación suave durante una hora a temperatura ambiente. Después se añaden 544 mg de hexadecilamina y se lleva a cabo la reacción de amidación durante 16-24 horas a 42 °C. Entonces se añade una disolución saturada de NaCl para detener la reacción y se añaden 1,5 volúmenes de etanol puro después de 15-30 minutos para aislar el derivado mediante precipitación. El precipitado se lava varias veces en etanol/agua 80:20 y después solo con etanol, y por último se seca a un vacío elevado a 40 °C.

Se obtienen 1,2 g de derivado de hexadecilamida, cuyo grado de amidación, medido mediante HPLC, es de aproximadamente 2-3% molar.

10 Ejemplo 2

Preparación de un hidrogel del derivado de hexadecilamida del AH a la concentración de 8 mg/ml, obtenido como se describió en el ejemplo 1

Se colocan 2 g de hexadecilamida del AH, obtenido como se describió en el ejemplo 1, en un recipiente adecuado y se añaden 250 ml de tampón fosfato (PBS) a pH 6,9. El tampón contienen NaCl 8,5 mg/ml, Na₂HPO₄ x 12H₂O 0,45 mg/ml, y NaH₂PO₄ x 2H₂O 0,11 mg/ml.

La mezcla se deja en agitación durante al menos 2 horas a temperatura ambiente y durante aproximadamente 1 hora a 60 °C. Después de este tiempo, la T vuelve a 20-25 °C, y la mezcla se deja en agitación durante 2-4 horas. La mezcla resultante, que contiene 8 mg/ml de hexadecilamida del ácido hialurónico, se divide en jeringas de vidrio, que después se someten a un ciclo de esterilización en calor húmedo (10 minutos) a aproximadamente 121 °C.

20 Ejemplo 3

Tratamiento de pacientes que padecen la discopatía de color negro con hexadecilamida del AH frente al ozono: estudio piloto

Por medio de un escáner de RMN empleado para otros objetivos diagnósticos, se identificaron 11 pacientes con discopatía de color negro a nivel lumbar (L3) y se trataron según el siguiente protocolo.

Materiales y métodos

- disolución anestésica (carbocaína al 1%);
- ozono 27 γ;
- hidrogel de hexadecilamida del AH preparado como se describió en el ejemplo 2 (8 mg/ml);
- técnica: infiltración radioscópica guiada, después de una anestesia cutánea mediante infiltración; el sitio de la punción se identificó observando la región lumbar en las dos proyecciones ortogonales;

Los pacientes se dividieron en dos grupos:

- A) 6 pacientes tratados con 0,5 cc del hidrogel;
- B) 5 pacientes tratados con 3 cc de ozono 27 γ (control).

Después del tratamiento se dejó que los pacientes descansasen durante varias horas y se les dio el alta con un tratamiento analgésico a base de paracetamol si era necesario. Todos los pacientes se sometieron a una evaluación de la discapacidad (RMDQ - Roland Morris Disability Questionnaire, cuestionario de discapacidad de Roland Morris) y una evaluación del dolor (VAS - Visual Analogue Scale, escala análoga visual) y, después de 6 meses, a un escaneado de NMR sagital para evaluar cualquier variación en el ángulo de incidencia pélvica.

40 Resultados:

RMDQ: todos los pacientes en ambos grupos indicaron una reducción en la discapacidad en términos de movilidad y una calidad de vida mejorada, de grado comparable;
 escala VAS: de nuevo, todos los pacientes indicaron una reducción indudable en el dolor, y este resultado, aunque previsto para el grupo tratado con ozono, es ciertamente sorprendente para el grupo A, que se trató con el hidrogel de AH derivatizado;
 evaluación con rayos X: en los pacientes del grupo A se observó una normalización del disco; tenía un aspecto más pálido y, por tanto, hidratado, en el escaneado de RMN, y muy similar a los discos sanos no tratados. Los pacientes en el grupo A también presentaron una mejora indudable en el ángulo de incidencia pélvica.

Sin embargo, ninguno de estos efectos funcionales fueron observados en los pacientes del grupo B, tratados con

ozono: no solo no se produjo mejora (normalización) en el aspecto del disco, que de hecho empeoró en 3 casos, sino que el tratamiento no produjo ningún efecto en el ángulo de incidencia pélvica.

Conclusiones:

5 Aunque este es solo un estudio piloto con un número limitado de pacientes, es evidente que el tratamiento con la hexadecilamida del ácido hialurónico tiene un efecto sorprendentemente favorable no solo en los síntomas, sino sobre todo en las funciones de pacientes que padecen la discopatía de color negro.

10 Los datos mostrados en la presente invención demuestran, de manera inequívoca, que el tratamiento con la hexadecilamida del ácido hialurónico no solo tiene un efecto analgésico comparable al del ozono, sino sobre todo que tiene un efecto curativo inesperado, que restablece la hidratación del núcleo pulposo y corrige el defecto postural manifestado por todos los pacientes que padecen la discopatía de color negro.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de una "discopatía degenerativa", que comprende un hidrogel de la hexadecilamida del ácido hialurónico.
- 5 2. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 1, en la que el ácido hialurónico tiene un peso molecular (PM) medio que varía entre 100.000 y 1.000.000 Da, preferentemente entre 500.000 y 730.000 Da.
3. Una composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el grado de amidación molar del ácido hialurónico varía entre 0,1% y 10%, preferentemente entre 1% y 3%.
- 10 4. Una composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que la concentración de la hexadecilamida del ácido hialurónico varía entre 0,1 y 30 mg/ml, preferentemente entre 3 y 20 mg/ml, y aún más preferentemente entre 5 y 15 mg/ml.
- 15 5. Una composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el ácido hialurónico tiene un peso molecular PM medio que varía entre 500.000 y 730.000 Da y un grado de amidación molar que varía entre 1% y 3%, y la concentración de la hexadecilamida del ácido hialurónico varía entre 5 y 15 mg/ml.
6. Una composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que contiene sustancias farmacéutica o biológicamente activas.
7. Una composición farmacéutica para su uso según la reivindicación 6, en la que las sustancias farmacéutica o biológicamente activas se seleccionan de fármacos antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos, inhibidores de citoquinas y anestésicos locales.
- 20 8. Una composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento del dolor en una discopatía degenerativa.
9. Una composición farmacéutica para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento correctivo del ángulo de incidencia pélvica y las alteraciones posturales relacionadas con la discopatía degenerativa.

25